N° d'enregistrement

au C.N.R.S. AO8492

THESE

DE DOCTORAT D'ETAT ES SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITE PARIS VI

PAR

M. Blaise KOUDOGBO

pour obtenir

le grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la These **Etude biochimique de quelques espèces de CAPPARIDACEAE et essai de chimiotaxinomie**

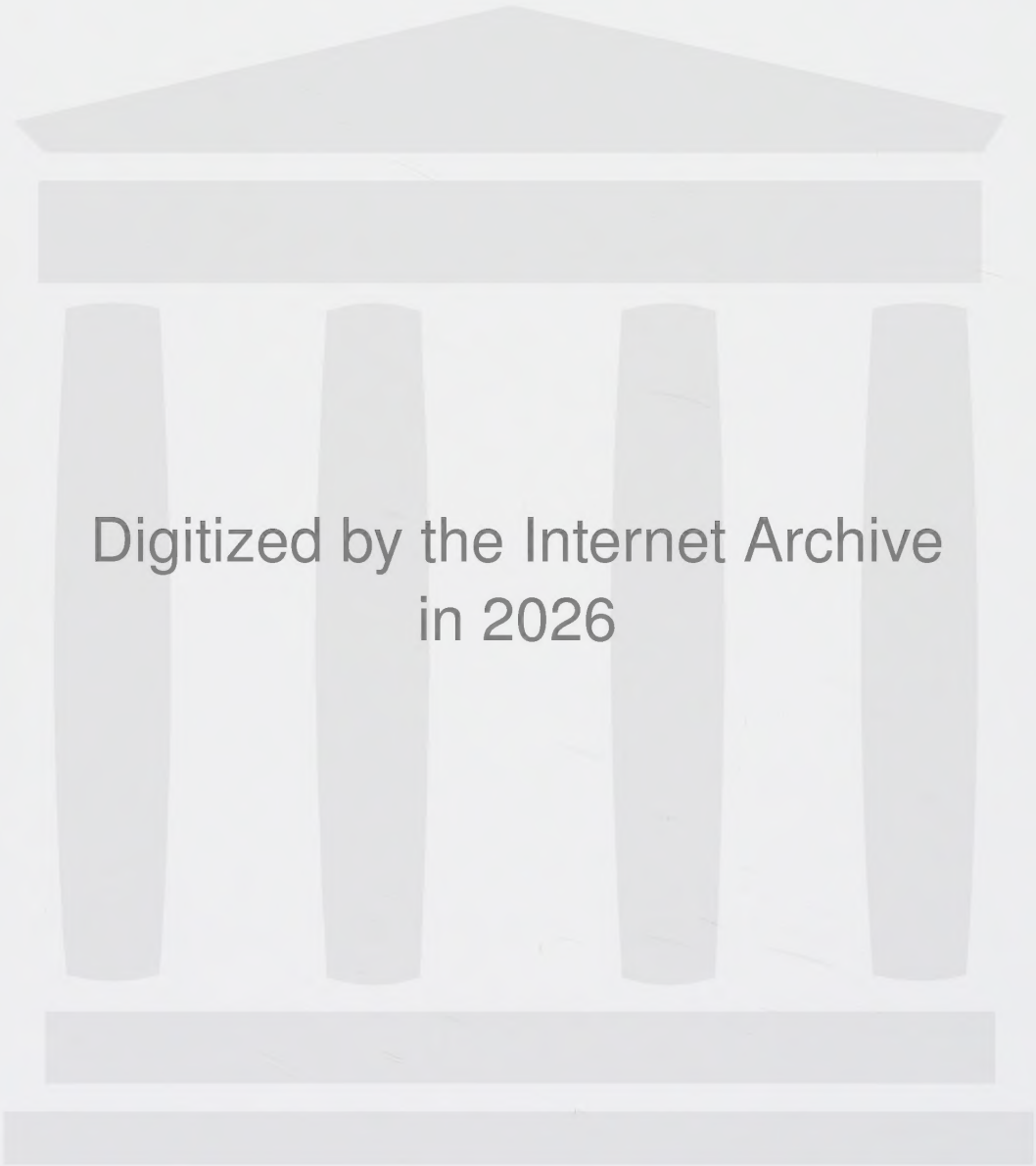
Soutenue le 28 mai 1973 devant la commission d'Examen

MM. R. SCHNELL Président

R. PARIS Examinateurs

P. DELAVEAU

E. ADJANOHOUN


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542716_0003

N° d'enregistrement

au C.N.R.S. AO8492

THESE

DE DOCTORAT D'ETAT ES SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITE PARIS VI

PAR

M. Blaise KOUDOGBO

pour obtenir

le grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la These **Etude biochimique de quelques espèces de CAPPARIDACEAE et essai de chimiotaxinomie**

Soutenue le **28** mai **1973** devant la commission d'Examen

MM. R. SCHNELL Président

R. PARIS Examinateurs

P. DELAVEAU

E. ADJANOHOUN

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Monsieur le Professeur Raymond SCHNELL
Professeur de Botanique à l'Université
PARIS VI

A Monsieur le Professeur René PARIS
Professeur de Matière Médicale à
la Faculté des Sciences
Pharmaceutiques de PARIS V
Directeur au Laboratoire National de
la Santé Publique

A Monsieur le Professeur Pierre DELAVEAU
Professeur de Matière Médicale à la
Faculté des Sciences
Pharmaceutiques de PARIS V
Directeur du Service de Biologie à
l'Hôpital Foch

A Monsieur le Professeur
Edouard ADJANOHOUN
Recteur et Président du Conseil
de l'Université du DAHOMEY

qui m'ont guidé au cours de ce travail et ont accepté
de le juger

HOMMAGE DE RESPECTUEUSE
GRATITUDE.

A ma Femme
dont les encouragements m'ont
beaucoup aidé

A ma fille SONAGNON

A mes parents et beaux parents
à toute ma famille

EN TEMOIGNAGE DE MA PROFONDE
AFFECTION.

INTRODUCTION

Un caractère frappant du milieu tropical est la variété de la végétation. Progressant des régions côtières vers l'intérieur des terres, on peut rencontrer des formations aussi différentes que forêts denses ombrophiles ou "rain forests", forêts claires parsemées quelquefois de plaques latéritiques, savanes, steppes et déserts. En outre, dans les régions montagneuses, l'altitude apporte un facteur supplémentaire de variation.

Ainsi pour une famille botanique donnée, est-on souvent amené à constater des adaptations morphologiques selon chaque milieu biogéographique et, lorsqu' intervient un remaniement taxinomique, ces différences doivent entrer en considération.

Si les premières classifications des plantes étaient artificielles et répondaient surtout à des nécessités pratiques, on ne tarda pas à leur substituer des systèmes horizontaux, basés sur la recherche de parentés réelles entre les espèces actuelles. L'évolution de la taxinomie a bénéficié des progrès des techniques d'observation microscopiques, mais leur côté quelque peu subjectif n'a pas complètement disparu. Ce fut le mérite de DARWIN (1850) de faire intervenir des systèmes verticaux orientant vers la phylogénie.

Le développement actuel de la chimie des substances naturelles peut apporter de nouveaux critères de classification.

Déjà le botaniste suisse A. P. de CANDOLLE (1804) reconnaissait clairement la valeur potentielle des caractéristiques chimiques se manifestant par la couleur, l'odeur et la saveur lorsqu'il écrivait à propos des Gentianaceae ; "il est peu de familles où l'analogie des formes et des propriétés se fasse sentir avec plus de force que dans celle des Gentianaceae : toutes ces plantes ont une saveur amère qui réside dans leur herbe et surtout dans leur racine", et il poursuit un peu plus loin : "je désirerais beaucoup que cet ouvrage, tombant entre les mains de quelque chimiste habile, pût l'engager à diriger une série d'expériences vers ce point particulier de la science, d'analyser quelques plantes de toutes les familles et de rechercher si les matériaux immédiats des végétaux se retrouvent avec quelque exactitude dans les sucs ou les organes analogues des espèces ou des genres du même ordre naturel". Mais on ne peut orienter une classification fondée sur les molécules présentes dans les espèces d'une famille botanique qu'en établissant avec exactitude leur structure chimique de façon à éviter méprises et contresens dans l'interprétation des résultats.

En effet l'intérêt actuel porté à la taxinomie moléculaire devrait être lié à deux sortes de progrès dans la connaissance chimique : il faut, d'une part, fixer avec précision l'architecture des substances déjà isolées, et, d'autre part, s'efforcer de découvrir divers constituants mineurs jusque là négligés. Etapes intermédiaires des métabolismes, ceux-ci peuvent être de précieux repères dans la compréhension de la chimie des plantes. Ces informations structurales pourront, dans la mesure du possible, aider à mieux apprécier les hypothèses phylogéniques et hiérarchiser

les différents critères dans les classifications botaniques.

Ce travail de chimiotaxinomie a déjà apporté de fructueux résultats. Ainsi a-t-on pu vérifier le bien fondé de la division du genre Pinus en deux sous-genres Haploxylon et Diploxylon (ERDTMAN, 1952) et l'intégration de Pinus Krempfii, originaire du Viet-Nam, dans le premier sous-genre (ERDTMAN, 1966). Parmi de récents travaux, on peut citer ceux de FAUGERAS et PARIS (1965) sur la chimiotaxinomie des Papillionacées Génistées, de POISSON (1965) sur la classification des Rauwolfia et de JANOT, LE MEN et GARNIER (1965) sur les Pervenches.

La famille des Capparidaceae constitue à nos yeux un domaine où les informations d'ordre chimique peuvent apporter une utile contribution aux botanistes systématiciens. En effet, cette famille très complexe a été l'objet de remaniements successifs de la part de PAX et HOFFMANN (1936) et plus récemment de AIRY SHAW (1966) et de HUTCHINSON (1967). Sa position phylogénique reste très discutée (TAKHTAJAN, 1959 ; HUTCHINSON, 1969).

Malheureusement, pour mener à bien une telle enquête qui oblige à la récolte d'un très grand nombre d'échantillons à des moments choisis et dans des localisations bien définies, cela nécessiterait d'y consacrer de nombreuses années. Mais le temps qui nous était accordé pour ce travail était très limité ; aussi nous ne nous en cachons pas les imperfections.

Malgré l'insuffisance de l'enquête et le nombre trop limité d'espèces explorées, nous nous efforcerons d'établir la composition chimique de diverses plantes classées comme Capparidaceae par HUTCHINSON en 1967, de définir cette famille et, si possible, de confronter les résultats obtenus avec les données des systématiciens.

Avant de passer à l'exposé de ces recherches, je tiens à exprimer toute ma respectueuse gratitude aux membres de mon Jury :

- A Monsieur le Professeur R. SCHNELL

  qui m'a toujours accueilli avec la plus grande bienveillance, m'a fait bénéficier de son expérience en Botanique tropicale et me fait l'honneur de présider le jury de cette thèse ;

- A Monsieur le Professeur R. PARIS

  qui a facilité ma venue en France, s'est toujours intéressé à mes recherches et m'a donné de nombreux conseils ;

- A Monsieur le Professeur P. DELAVEAU

  qui m'a accueilli dans son laboratoire, m'a confié le sujet de ce travail qu'il a guidé avec une grande sollicitude et m'a prodigué de nombreuses marques d'intérêt ;

- A Monsieur le Professeur E. ADJANOHOUN

  qui a bien voulu s'intéresser à ma formation et m'a constamment témoigné sa sympathie.

Je ne saurais oublier que Monsieur le Professeur J. KERHARO, dont j'ai été l'élève à la Faculté de DAKAR, m'a donné le goût de la Matière Médicale, a facilité mon stage en France et mon approvisionnement en matières premières ; je lui exprime toute ma reconnaissance.

Ce travail a pu être entrepris grâce à une bourse de l'O. M. S. dont j'ai bénéficié avec l'accord du Gouvernement Dahoméen à qui j'adresse tous mes sincères remerciements.

Ma gratitude va également à tous ceux ou celles qui m'ont aidé à des titres divers :

- Monsieur le Professeur A. KJAER, de la Technical University of Denmark

  pour ses conseils très efficaces dans le domaine des hétérosides soufrés ;

- Monsieur le Professeur G. FAUGERAS, pour l'intérêt qu'il a toujours porté à mes recherches ;

- Monsieur le Professeur J. L. POUSSET, qui m'a amicalement guidé dans l'étude des alcaloïdes ;

- Monsieur le Professeur H. SCHRAUDOLF, du Botanisches Institut Der Justus Liebig-Universität Giessen, qui m'a aimablement adressé des hétérosides soufrés étalons ;

- Madame F. LEMONNIER, chargée de recherches à l'I. N. S. E. R. M.

et Mlle M. PODETTI

pour leur aide très efficace dans l'étude des acides aminés.

Je ne saurais oublier les directeurs des différents laboratoires qui m'ont permis d'étendre ces recherches à un grand nombre de représentants de la famille des Capparidaceae :

- Monsieur J. VIDAL, Maître de Recherches au C. N. R. S.
- Monsieur N. HALLÉ, Maître de Conférence au Laboratoire de Phanérogamie du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris ;
- Monsieur VERDIER, Directeur de la graineterie du Museum d'Histoire Naturelle de Paris ;
- Monsieur J. P. N. BRENA, Directeur de l'herbier du Royal Botanic Garden de Kew ;
- Monsieur G. MAYNART, Maître assistant à la Faculté Mixte de Médecine et Pharmacie de DAKAR ;
- Monsieur L. AKE ASSI, Maître assistant à la Faculté des Sciences d'ABIDJAN.

Je remercie également Monsieur H. GUERIN, Maître de Conférence honoraire et Madame H. MOYSE, Assistante, pour leur aide dans la rédaction de cette thèse,

ainsi que les chercheurs et collaborateurs techniques du laboratoire de Matière Médicale, en particulier :

Mme N. MOULY, Mlles F. HOTTELIER, S. DURET et E. HENRI pour leur collaboration très amicale au cours de mon séjour au laboratoire.

PLAN DU TRAVAIL

Pages

INTRODUCTION

Première Partie

POSITION BOTANIQUE DES CAPPARIDACEAE

I - Généralités 26

II - Répartition géographique 29

III - Affinités 33

IV - Hétérogénéité 36

V - Historique 41

VI - Récents remaniements des Capparidaceae 45

A) Classification de Pax et Hoffmann 45

B) Classification de Airy Shaw 47

C) Classification de Hutchinson 50

Pages

Deuxième Partie

EXPLORATION BIOCHIMIQUE DES CAPPARIDACEAE

I - Travaux antérieurs 60

A) Hydrocarbures - Alcools aliphatiques et triterpéniques - Stérols. 61

B) Polyphénols. 62

C) Alcaloïdes. 63

D) Hétérosides soufrés. 65

II - Travaux personnels 74

A) Matériel d'étude. 75

B) Méthodes générales d'investigation. 78

1) Introduction 78
2) Stérols et triterpènes 80
3) Saponosides 81
4) Flavonoïdes 82
5) Proanthocyanes 83
6) Tanins 84
7) Quinones 85
8) Alcaloïdes 86
9) Hétérosides cyanogénétiques 88
10) Hétérosides soufrés 89

C) Etude de la fraction liposoluble 95

I - Méthodes d'étude 97

a) Introduction 97
b) Préparation de l'insaponifiable 98
c) Etude de l'insaponifiable 101
1. Chromatographie sur couche mince 101
2. Chromatographie préparative sur couche mince 102
3. Chromatographie sur colonne 103

Pages

II - Etude des constituants de l'insaponifiable 103

A. Hydrocarbures : n-alcanes 104
1) Conditions opératoires 104
2) Résultats 105

B. Alcools 109
a) Alcools aliphatiques 109
b) Alcools triterpéniques 111
1. Etudes chromatographiques 111
2. Etude des différents alcools triterpéniques isolés des Capparidaceae 116
a) Buchholzia coriacea Engl. 116
b) Euadenia trifoliolate Oliv. 117
c) Ritchiea Capparoïdes Britten 121

C. Stérols 124

1) Caractérisation 124
2) Identification 125
3) Résultats 126

D. Etudes des Polyphénols 129

- Acides-phénols 131

I Extraction et purification 132
II Identification 133

- Flavonoïdes 141

Généralités 141

I - Les génines flavoniques du Boscia senegalensis 142

A) Extraction 142
B) Concentration et purification 142
C) Hydrolyse 142
D) Etude des génines flavoniques 143
1) Chromatographie sur papier 143
2) Chromatographie sur couche mince 143
3) Spectre d'absorption en UV 147

Pages

II - Etude d'un hétéroside flavonique de Boscia senegalensis Lam. 153

- Extraction 153

- Etude du précipité jaune 153

- Hydrolyse du flavonoside 155

1) Etude de la génine 155
2) Etude de l'ose 156

- Proanthocyanes 158

Généralités 158
Isolement des proanthocyanes de l'écorce de tronc de Buchholzia coriacea Engl. 159

I Extraction 159
II Transformation des proanthocyanes en anthocyanes 160
III Etude chromatographique 160

A) Chromatographie sur couche mince de cellulose 160
B) Révélation 160

IV Séparation des anthocyanes 161
V Identification des anthocyanes 162

E) Etude des Alcaloïdes 165

Introduction 166

Extraction et purification des Alcaloïdes 167

I - Extraction et séparation des Alcaloïdes par les méthodes habituelles 167

A) Extraction 167
1) Obtention des bases tertiaires 167
2) Obtention des bases quaternaires 168

Pages

II - Séparation des Alcaloïdes par des micro-méthodes 171

A) Chromatographie préparative 171
B) Electrophorèse préparative 171

Etude chimique des Alcaloïdes 173

I - Isolement de la L-stachydrine 173

II - Isolement de l'hydroxy-3 L-stachydrine 174

III - Isolement de l'hydroxy-tétraméthyl ammonium 175

IV - Isolement de la choline 175

V - Synthèse de la L-stachydrine 175

VI - Synthèse de l'hydroxy-3 L-stachydrine 176

VII - Résultats 177

F) Etude des Hétérosides soufrés 180

Premier chapitre : Méthodes générales d'étude des Hétérosides soufrés 182

I - Extraction 183

II - Identification 184

A) Chromatographie sur papier 184

B) Chromatographie sur couche mince 185

C) Electrophorèse 186

Deuxième chapitre : Méthodes utilisées dans ce travail 187

I - Etude préalable en chromatographie 188

A) Préparation de la liqueur extractive 188

B) Chromatographie sur papier 188

C) Chromatographie sur couche mince 193

Pages

II - Isolement et purification des Hétérosides soufrés 193

A) Préparation de la liqueur extractive 193

B) Purification 194

III - Hydrolyse enzymatique 195

A) Généralités : Hydrolyse des Glucosinolates 195

B) Préparation de la myrosinase 196

C) Conditions d'hydrolyse 199

D) Etude des isothiocyanates formés 199

IV - Préparation des hétérosides soufrés par chromatographie préparative sur papier 205

A) Liqueur extractive 205

B) Conditions de chromatographie 205

Troisième chapitre : Application des Techniques aux drogues étudiées 206

I - Chromatographie préparative sur papier 207

Hétérosides soufrés isolés 207

1) Euadenia trifoliolata Oliv. 207
2) Euadenia éminens Hook. 214
3) Buchholzia coriacea Engl. 214
4) Ritchiea capparoïdes Britten 214
5) Maerua angolensis DC. 214
6) Capparis biloba Hutch. et Dalz. 215

II - Etude des Hétérosides soufrés après hydrolyse enzymatique 217

Séparation et étude des produits de l'hydrolysat 217

1) Isothiocyanate de méthyle 218
2) Isothiocyanate d'allyle 218

Pages

3) Vinyl-5 exazolidine 2-thione 218
4) Cleomine 219
5) Autres isothiocyanates 219

Résultats 220

G - Etude des acides aminés 224

I - Extraction 227

II - Séparation 228

A) Electrophorèse 228

B) Chromatographie 229

C) Révélation 230

III - Dosage 232

Pages

Troisième Partie

ESSAI DE CHIMIOTAXINOMIE 239

- Fraction Liposoluble des Capparidaceae 244
- Polyphénols des Capparidaceae 246
- Hétérosides soufrés des Capparidaceae 249
- Alcaloïdes des Capparidaceae 252
- Acides aminés 254
- Silhouette chimique des Capparidaceae étudiées 259
- Discussion 271

CONCLUSION GENERALE 273

BIBLIOGRAPHIE

PREMIERE PARTIE

POSITION BOTANIQUE DES CAPPARIDACEAE

I - GENERALITES

Le terme "CAPPARIDACEAE" fut créé par LINDLEY en 1836 pour désigner une famille de plantes essentiellement pantropicales dont quelques espèces, en particulier Capparis spinosa L. et Cleome pungens Willd. ont été introduites en Europe.

En réalité cette famille végétale a subi de nombreux remaniements au cours du temps et son étendue a donc varié. C'est à PAX et HOFFMANN (1936) qu'est due la conception la plus large, avec une centaine d'espèces rattachées à 45 genres.

On rencontre surtout, dans les Capparidaceae, des arbres (Buchholzia coriacea Engl.), des arbustes (Euadenia trifoliolata Oliv.) ou des arbrisseaux (Euadenia eminens Hook., Ritchiea capparoïdes Britt.), quelquefois épineux, surtout dans le genre Capparis, mais on trouve aussi des formes herbacées annuelles.

Les feuilles, habituellement pétiolées, sont ordinairement simples, entières (Capparis, Cleome, Cadaba, Boscia), rarement trifoliolées (Euadenia, Crateva, Ritchiea), exceptionnellement à 7 folioles (Boscia madagascariensis Moust.). Elles sont alternes, de consistance coriace chez les plantes des régions arides.

Les stipules, lorsqu'elles existent, sont de petite taille ou transformées en épines ainsi qu'on l'observe dans toutes les espèces du genre Capparis à l'exception de C. erythrocarpos Isert (= C. afzelii D.C.). Chez certaines espèces de Maerua et de Cadaba, ces épines ne sont pas d'origine stipulaire mais proviennent de la transformation des rameaux.

Les poils uni- ou pluricellulaires, simples ou composés, quelquefois peltés, sont glandulaires ou en forme d'épines.

Les fleurs, hypogynes, d'assez grandes dimensions, remarquables par leurs pétales de couleur blanche, jaune ou rouge, sont généralement hermaphrodites et groupées en inflorescences variées. Elles sont axillaires ou terminales, actinomorphes, rarement zygomorphes.

Le calice est formé de 4 sépales libres ou partiellement soudés, imbriqués, valvaires.

La corolle, quelquefois absente, comporte 4 pétales ou plus, libres et alternant avec les sépales. Elle ne possède que rarement des appendices.

La famille des Capparidaceae est caractérisée par le réceptacle glandulaire donnant naissance à un gynophore ou à un gynandrophore.

L'androcée comporte un nombre inconstant d'étamines. On peut rencontrer 4, 6, 10, 13 étamines respectivement chez Cleome tetrandra Banks, Cleome viscosa L., Polanisia

chrysantha DC. et Polanisia graveolens Raf. Lorsqu'elles sont au nombre de 4, les étamines alternent avec les pétales. Ces organes reproducteurs mâles ne sont pas tous fertiles. Certains peuvent être transformés en staminodes. Chaque étamine comprend un filet filiforme ou clavé, une anthère plus ou moins basifixe, introrse, biloculaire. La déhiscence se fait par deux fentes longitudinales.

Le gynécée syncarpe présente les caractéristiques suivantes : 2 à 8 carpelles soudés ont un stigmate capité, un style réduit ou au contraire longuement filiforme ; l'ovaire, généralement uniloculaire, parfois pluriloculaire, contient un à plusieurs ovules campylotropes à placentation pariétale.

Le fruit est, soit un fruit sec (capsule déhiscente par deux fentes), soit une baie.

Les graines ont une forme souvent courbe; quelquefois arillées, elles ne comportent pas d'albumen ; l'embryon est incurvé et parfois spiralé.

II - REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Les Capparidaceae sont liées au climat tropical ou subtropical et dépassent peu ces limites, exigeant généralement une température élevée. Cependant, dans la Cordillère des Andes, on les trouve à une altitude relativement élevée. En général, elles préfèrent les steppes sèches, raison pour laquelle plusieurs d'entre elles participent à des formations xérophiles.

La famille est diversement répartie dans les deux hémisphères. Ainsi, en utilisant la classification en sous-familles et en tribus selon BENTHAM et HOOKER et les auteurs modernes, on peut noter les aires de localisation suivantes :

L'unique espèce des Emblingioideae se trouve en Australie occidentale.

La sous-famille des Dipterygioideae comporte deux genres monospécifiques : Dipterygium et Puccionia ; le premier se rencontre du Nord-Est de l'Afrique (Egypte) jusqu'au Pakistan ; le second, localisé en Somalie, est rattaché actuellement aux Crucifereae.

La sous-famille des Pentadiplandroideae représentée par une seule espèce, Pentadiplandra glaucum DC. vit en Afrique ainsi que les deux espèces des Calyptrothecoideae :

Calyptrotheca somalensis Gilg. et C. stuhlmannii Gilg.

Les Podandrogynoïdeae ne comportent que le genre Podandrogyna avec 10 espèces dont certaines vivent dans les Andes.

Les Capparidoïdeae et les Cleomoïdeae sont répandues dans l'Ancien et le Nouveau Monde. Le centre de développement des Cleomoïdeae riche en genres, se situe en Amérique (Cleome, Cleomella, Cristatella, Isomeris, Oxystylis, Wislizenia). On trouve en Afrique un autre centre riche en espèces mais pauvre en genres (Cleome, Detrahelia). Les genres Dactylaena et Haptocarpum vivent en Amérique Tropicale ; Physostemon est sud-américain. Le plus grand nombre des espèces de Gynandropsis vit aussi en Amérique; seul le Gynandropsis gynandra Briq. est pantropical. Le monospécifique Justago est australien.

La sous-famille des Capparidoïdeae, mis à part les genres Capparis et Crateva, s'étend largement dans les pays tropicaux des deux hémisphères.

La tribu des Maerueae comporte des genres répartis entre les régions tropicales d'Amérique et d'Afrique ; ils sont cependant plus nombreux en Amérique où certains genres poussent dans les Andes.

La tribu des Cappariideae avec les genres Capparis, Atamisquea, Belencita, Morisonia, Steriphoma, Stuebelia est surtout américaine, mais les Capparis, abondants en Amérique, comportent de nombreuses espèces dans l'Ancien Monde (Afrique, Asie).

La seule espèce des Koeberlinia, K. spinosa Zucc., est localisée dans les déserts du Texas et de l'Arizona jusqu'au Mexique ; on la retrouve aussi en Bolivie.

Les Buhsioideae ressemblant aux Cleomoïdeae se rencontrent à l'Est de la Méditerranée (Buhsia) et en Somalie.

En face de la grande richesse en espèces des Capparis du continent américain, l'Afrique paraît plus pauvre bien qu'elle possède quelques genres endémiques : Bachmania, Boscia, Buchholzia, Cladostemon, Courbonia, Euadenia. Boscia madagascariensis Moust. est spécifique de Madagascar. Le genre Cadaba se retrouve en Afrique, à Madagascar, à Ceylan, dans le Sud-Est de l'Asie et dans les îles Malaises.

Le genre Apophyllum, ne comprenant qu'une seule espèce, A. anomalum F. MUELL, est australien tandis que le Meeboldia, qui était décrit sous le nom de Boscia, est un genre de l'Asie tropicale. A l'exception de Forchhammeria, américain, et de Physena, endémique de Madagascar, les Stixeae ont un centre de développement dans les Indes.

Les Capparidaceae participent donc à toutes les formations végétales du monde tropical. On y distingue des genres rudéraux (Cleome, Gynandropsis), des espèces de la forêt humide (Buchholzia coriacea Engl., Euadenia trifoliolata Oliv.) ou caractéristiques des steppes boisées (Maerua, Cadaba, Boscia, Capparis).

Plusieurs Capparidaceae ont facilement été transportées par l'homme en dehors de leur aire normale du fait de leur caractère rudéral. Ainsi Cleome spinosa L. d'Amérique est subspontané en Afrique, Gynandropsis gynandra Briq. africain se retrouve en Amérique et Cleome viscosa L. de l'Ancien Monde s'est répandu sur une grande partie de l'Asie jusqu'en Australie et dans les Iles du Pacifique méridional.

La répartition très diverse des Capparidaceae dans différents milieux est accompagnée d'une variation dans leur morphologie. Sans être le seul moteur des tentatives de nouvelles classifications de la famille, cette hétérogénéité morphologique a cependant invité les systématiciens à des remaniements profonds.

III - AFFINITES

Capparidaceae et Crucifereae sont si proches que certaines espèces, appartenant en particulier au genre Cleome sont difficiles à classer. Pour EICHLER (1878), le seul caractère différentiel serait la présence de l'androcée tétradyname chez les Crucifereae, Mais le fruit des Capparidaceae est dépourvu de fausse cloison.

Déjà B. de JUSSIEU (1758) faisait remarquer que les Cleome avec leurs 6 étamines assuraient une transition entre les deux familles.

Sur le plan morphologique, si comme les Crucifereae, la sous-famille des Cleomodoïdeae comporte des formes herbacées, les Capparidaceae sont le plus souvent des arbres ou des arbustes. De plus les deux familles n'ont pas habituellement le même biotope. Elles ont aussi une biogéographie différente : les Crucifereae sont surtout représentées en pays tempérés, les Capparidaceae surtout en pays tropicaux.

Des caractères communs se rencontrent dans l'appareil floral. Ainsi, dès 1826, A. SAINT-HILAIRE démontre que la symétrie d'ordre 4 est caractéristique des Crucifereae. Non seulement cette forme se retrouve chez les Crucifereae et les Cleome mais encore la première déviation du type chez les Capparidaceae se fait comme chez les Crucifereae par le dédoublement de deux étamines. Mais quant à la constitution

du diagramme floral, le genre Cleome est le plus réduit de cette famille. Chez tous les autres genres les étamines sont devenues nombreuses par multiplication des quatre mamelons primitifs. Cependant chez les Crucifereae la tétradynamie n'est pas constante. Quelquefois elle fait défaut, soit par suite d'avortement des deux étamines latérales, soit par concrescence deux à deux des grandes étamines. L'ovaire est généralement interprété comme formé de deux carpelles à placentation pariétale.

L'affinité entre les deux familles est marquée au niveau de la structure du périanthe, la présence des nectaires et le pistil.

On notera en outre chez les Capparidaceae deux caractères intéressants concernant les fruits : la placentation pariétale et la présence des ovaires persistantes, qui se rencontrent aussi chez les Papaveraceae, les Fumariaceae et les Crucifereae.

La famille des Capparidaceae est morphologiquement et taxinomiquement complexe, surtout si l'on envisage les relations au niveau du genre Capparis et les subdivisions dans le genre Cleome. Remarquons que les familles monogénériques suivantes, à affinité incertaine, Moringaceae Dumortier, Koeberliniaceae Engler et Tovariaceae Pax sont souvent rapprochées des Capparidaceae.

Ainsi les Capparidaceae présentent des degrés différents d'analogie avec diverses familles telles que

Crucifereae, Moringaceae, Fumariaceae, etc.

La chimie moléculaire pourra-t-elle jouer ici un rôle en confirmant ou en rejetant ces affinités ?

PLACE DES CAPPARIDACEAE DANS LE REGNE VEGETAL : SYSTEME DE HUTCHINSON 1959

PROANGIOSPERMES

MAGNOLIALES	RANALES
↓	↓
DILLENIALES	RHOEADALES
↓	Papaveraceae
BIXALES	Fumariaceae
↓	↓
PITTOSPORALES	CRUCIALES
↓	↓
CAPPARIDALES	RESEDALES
Capparidaceae	
Moringaceae	
Tovariaceae	

Tableau I

PLACE DES CAPPARIDACEAE DANS LE REGNE VEGETAL:SYSTEME DE TAKHTAJAN 1959

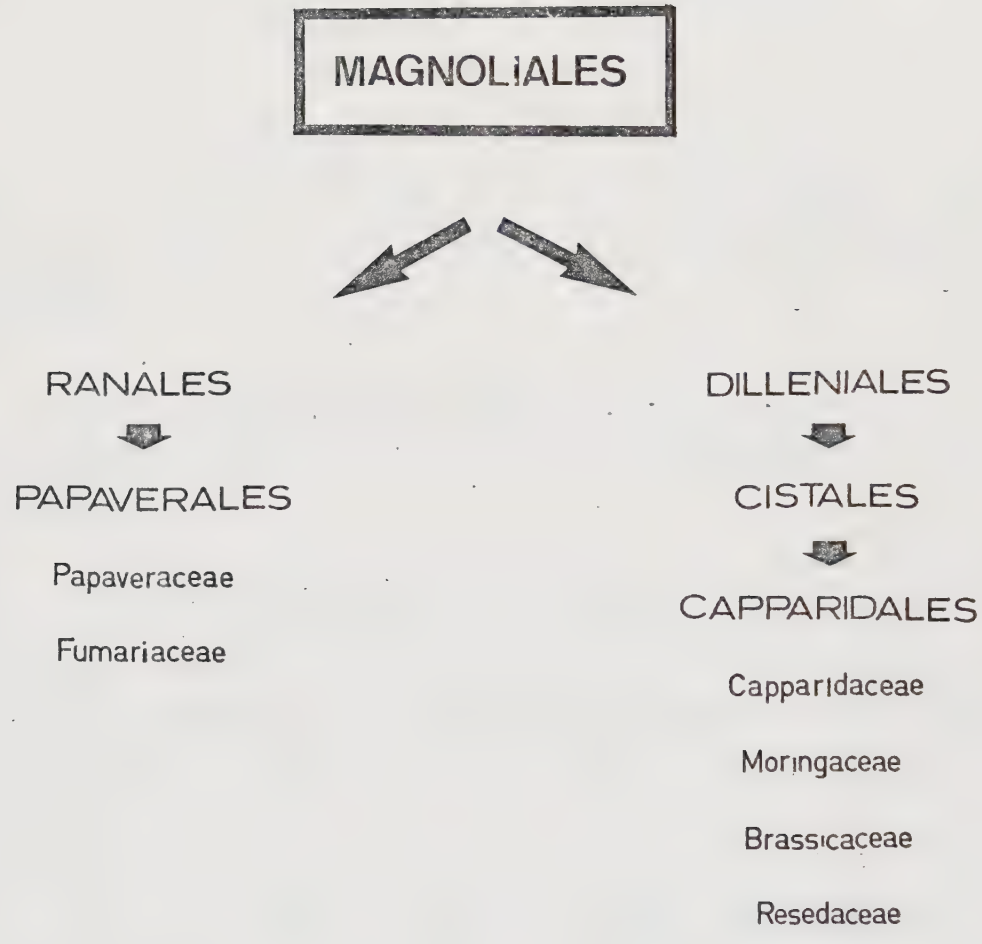


Tableau II

IV - HETEROGENEITE DES CAPPARIDACEAE

Que l'on considère l'appareil végétatif, l'inflorescence, le diagramme floral ou la forme des fruits, d'importantes variations se manifestent chez l'ensemble des Capparidaceae.

C'est ainsi que les espèces ligneuses dominent chez les Capparidoideae tandis que les Cleomoïdeae sont surtout herbacées.

Chez les Cleomoïdeae et la plupart des petites sous-familles, l'inflorescence est une grappe simple que l'on rencontre aussi chez les Capparidoïdeae dont certains genres cependant ont des fleurs disposées en ombelles ou en corymbes.

Chez les Capparis, Boscia, Maerua, Apophyllum, les inflorescences sont généralement latérales et les fleurs cachent les axes de troisième ordre. Cependant les Bachmannia sont cauliflores. Les fleurs des genres Belencita, Cadaba, Cladostemon, Tirania et de certaines espèces de Capparis sont isolées.

Mais l'hétérogénéité dans cette famille des Capparidaceae est plus marquée au niveau des diagrammes

floraux des différents genres.

Le périanthe est typiquement tétramère. Chez les genres Stixis, Forchhammeria, Physena le nombre des sépales varie de 4 à 8 tandis que les pétales font défaut. Les genres Bachmannia, Boscia, Courbonia et Thylachium sont en général apétales ainsi que certaines espèces de Maerua et Cadaba. Les deux pétales antérieurs sont avortés chez Desmocarpus et Cadaba et parfois chez Apophyllum. Les genres Emblingia et Pentadiplandra sont caractérisés respectivement par 5 S + 2 P et par 5 S + 5 P. Le périanthe de Calyptrotheca est formé de 7 éléments : les deux externes, petits, étant sépaloïdes tandis que les cinq internes sont plus grands et constituent les pétales.

Certains auteurs ont essayé d'expliquer la formation et les dispositions des sépales et pétales. Selon la conception de EICHLER (1878) les 2 sépales extérieurs sont médians, les 2 intérieurs sont transversaux. Quelquefois ces deux positions ne sont pas distinctes comme chez Boscia.

Si les sépales existent, ils sont toujours disposés en diagonale. A ce sujet, les études anatomiques ont permis à EGGERS (1935) d'avancer que chez les Crucifereae les sépales diagonaux occupent une position d'abord découverte puis recouverte par les sépales médians. Du fait de leur proche parenté avec les Crucifereae, EGGERS suppose qu'il existe les mêmes rapports chez les Capparidaceae. Il a donc rapproché le genre Cleome des Crucifereae.

La diversité au sein de la famille est plus marquée si l'on considère l'androcée (Fig.

Le type fondamental (2 + 2) E se retrouve chez certaines espèces de Cleome (C. tetrandra Banks, C. drosera-folia Delile) avec 2 étamines transversales extérieures et 2 médianes intérieures, toutes fertiles. Le genre Dactylaena possède la même disposition mais les 2 étamines postérieures et une médiane sont réduites à des staminodes.

La plupart du temps, les deux étamines médianes se dédoublent ; il y a donc 6 étamines, faisant penser au type Crucifereae. C'est le cas chez le plus grand nombre d'espèces des genres Cleome, Physostemon et toutes les espèces des genres Gynandropsis, Cleomella, Isomeris, Wislizenia, Buhsia, Dipterygium et quelques représentants de la tribu des Capparidoideae : Cadaba, Euadenia, Steriphoma.

Une déviation du type Crucifereae s'observe cependant par la scission des étamines médianes en un nombre supérieur à deux. Ceci s'observe chez certains Cleome. Chez d'autres, les étamines postérieures se présentent sous forme de staminodes. Avec le genre Dianthera on peut aussi remarquer la présence de 3 ou 4 staminodes.

Quelquefois le dédoublement peut se localiser au niveau des étamines médianes. L'étamine postérieure des Atamisquea et de certains Physostemon se divise en trois ou plus, l'antérieure en deux. Une disposition comparable se retrouve chez Justago avec toutefois la disparition de l'étamine antérieure.

Les étamines latérales se dédoublent chez Polanisia graveolens Raf. Par contre chez Boscia senegalensis Lam. les 4 étamines se dédoublent par scission pendant que, chez Stuebelia, les transversales sont divisées en 5 et les médianes en 3.

Au niveau du gynécée, les différences sont moins marquées et ne conduisent qu'à deux dispositions :

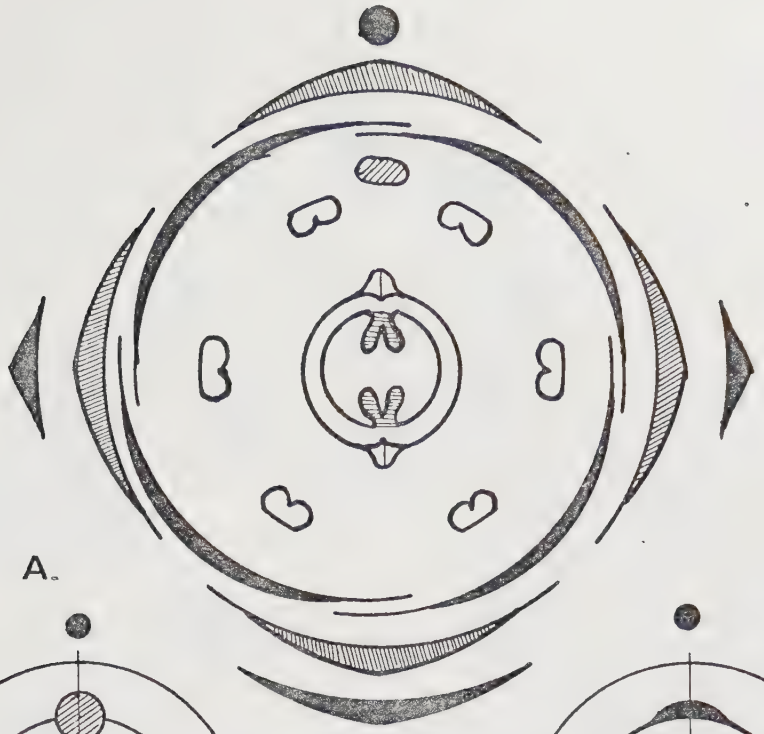
1/ Deux carpelles latéraux chez toutes les espèces de Cleome, la plupart des représentants des genres Capparis, Steriphoma et Crateva ;

2/ Plus de deux carpelles, souvent jusqu'à 10 et même 12, provenant fréquemment d'un dédoublement chez les genres Thylachium, Atamisquea, Morisonia, Cadaba.

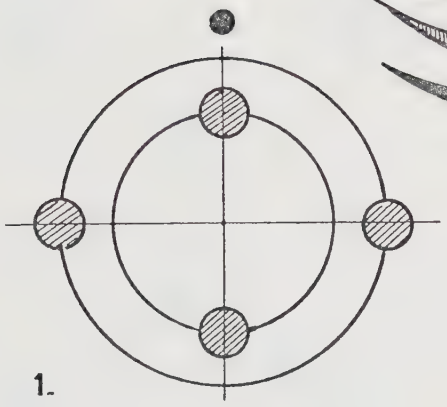
L'ovaire donne soit un fruit sec chez les Cleomoïdeae, soit surtout une baie chez les Capparoïdeae. Ce dernier fruit peut être ou bien oblong avec certaines espèces de Capparis, Crateva, Ritchiea, Koeberlinia, Morisonia ou bien cylindrique avec des étranglements chez Maerua évoquant l'aspect d'une gousse. Les Cleomoïdeae ont un fruit sec avec replum mais les capsules cloisonnées de Wislizenia et Oxystylis font exception. Le genre Isomeris possède un fruit piriforme avec un péricarpe boursouflé, le tout ayant l'aspect de cuir verni ; il a été successivement considéré comme un fruit indéhiscent par NUTTAL, puis déhiscent par ASA GRAY et ABRAHAMS ; dans ses analyses anatomiques, BRIQUET a confirmé l'existence d'une déhiscence.

Les Emblingioïdeae ont un fruit sec indéhiscent, les Pentadiplandroideae une baie, les Dipterygioideae un fruit ailé (Dipterygium) ou non (Puccionia).

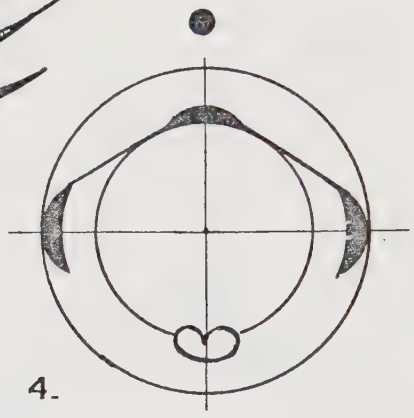
Cette inconstance que nous venons de décrire au niveau des caractères végétatifs et floraux des Capparidaceae expliquerait les nombreux remaniements qui ont successivement modifié l'ampleur et la position systématique de cette famille.



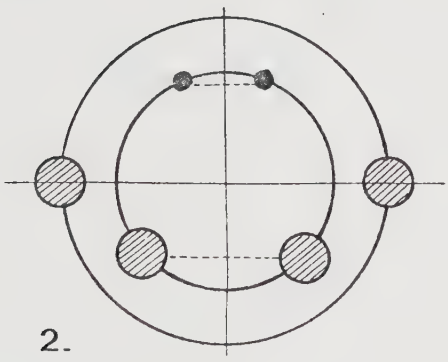
A.



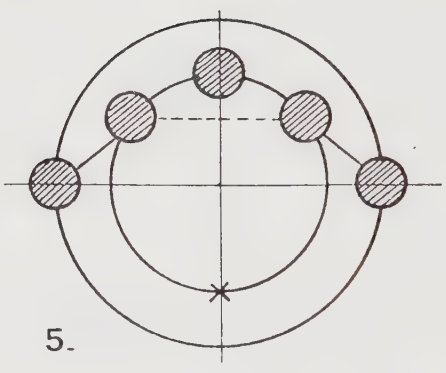
1.



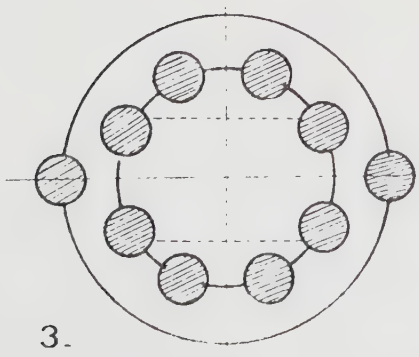
4.



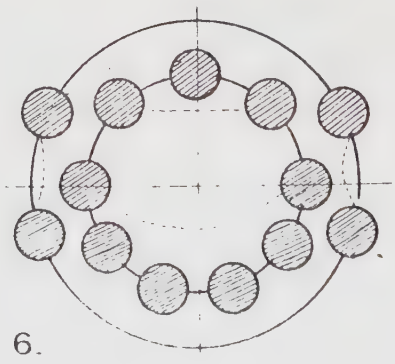
2.



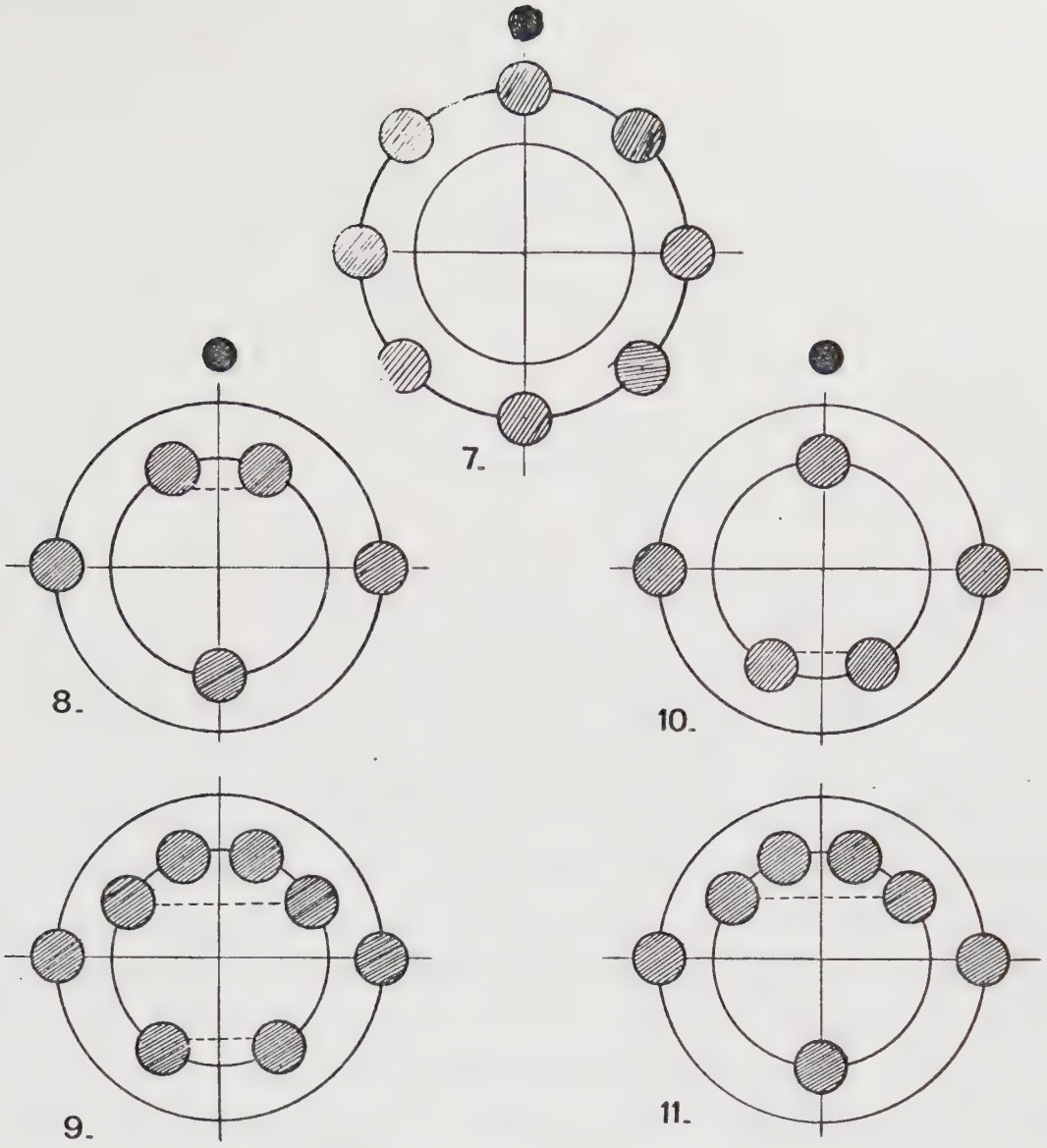
5.



3.



6.



A. Cleome viscosa

1. Cleome tetrandra
2. Dianthera hochstetteri
3. Polanisia chrysantha
4. Dactylaena micrantha
5. Roeperia cleomoïdes
6. Polanisia graveolens

7. Boscia senegalensis

8. Gynandropsis pentaphylla
9. Physostemon intermedius
10. Cleome pentaphylla
11. Physostemon tenuifolium

Figure n° 1

V - HISTORIQUE

Figurant déjà sur une liste déposée en 1759 par Bernard de JUSSIEU au Jardin Botanique de Louis XIV, la Famille fut définitivement créée par cet auteur en 1789 et dénommée "CAPPARIDES" avec neuf genres parmi lesquels se trouvaient non seulement les véritables représentants de l'actuelle famille des Capparidaceae (Cleome, Capparis, Crateva), mais aussi d'autres types actuellement classés ailleurs : Viola, Reseda, Tropæolum, etc. On notera toutefois que ces plantes sont aujourd'hui rangées dans des familles proches des Capparidaceae et l'on ne peut que souligner l'exactitude du jugement de B. de JUSSIEU qui avait pressenti des affinités qu'a confirmées la chimiotaxinomie avec la présence des hétérosides soufrés ou glucosinolates.

Les botanistes qui suivirent y ajoutèrent ou en retirèrent de nombreux genres, ce qui ne fit qu'augmenter la confusion régnant au sein du groupe. Ainsi ADANSON (1763) retire Viola et ajoute Vitis ainsi que Passiflora. A. de CANDOLLE (1824) porte le nombre total des genres à 17 et supprime certains types marginaux. Puis avec ENDLICHER (1841) cette famille comprend 24 représentants. LINDLEY

(1853) distingue 28 genres avec 340 espèces. BENTHAM et HOOKER (1862) donnent des aperçus généraux sur 23 genres et 10 formes anormales. Mais BAILLON (1872) n'admet que 17 genres avec 300 espèces. DURAND (1888) dans son Index generum phanerogamorum les répartit en 2 tribus et 31 genres comportant 360 espèces environ. PAX (1891) distingue 33 genres parmi lesquels 8 existent aux Indes (HOOKER, 1875). PAX et HOFFMANN (1936) distinguent 48 genres avec une centaine d'espèces. Récemment AIRY SHAW (1966) admet 30 genres et 650 espèces et HUTCHINSON (1967) également 30 genres mais 440 espèces.

Quant à la place des Capparidaceae dans les Dialypétales, elle se situait selon ENGLER et GILG (1924) dans l'ordre des Rhoeadales avec les Papaveraceae, Tovariaceae, Crucifereae, Resedaceae, Moringaceae et Bretschneideraceae. WETTSTEIN (1924) et plusieurs autres systématiciens considèrent que cet ordre présente une unité naturelle, lui trouvant une filiation phylogénique à partir des polycarpiques. Récemment cette thèse a été renforcée par les travaux de MORITZ et ROHN (1956) utilisant des méthodes sérologiques. Mais de son côté HUTCHINSON (1926) limitait cet ordre aux Papaveraceae, Fumariaceae et groupait Capparidaceae, Moringaceae et Tovariaceae dans l'ordre des Capparidales tandis que les Crucifereae formaient l'ordre monotype des Cruciales.

En 1959, HUTCHINSON fait dériver les Capparidales des Pittosporales, les autres, Rhoeadales et Cruciales, étant issues des Ranales. Ce point de vue n'est pas partagé par TAKHTAJAN (1959) qui place les Papaveraceae dans l'ordre des

Papavérales, rattaché aux Ranales, tandis que les autres familles, Capparidaceae, Moringaceae, Tovariaceae, Bretschneideraceae, forment l'ordre des Capparidales provenant des Cistales.

En fait ce remaniement de l'ordre des Rhoeadales avait été suggéré par HALLIER (1912) qui rattachait les Papaveraceae aux Ranales, les Moringaceae aux Cesalpinioïdae et formait avec les Capparidaceae, Crucifereae, Resedaceae l'ordre des Cruciales. Ce dernier ordre se trouverait dans le phylum des Ranales. Mais plus récemment HUTCHINSON (1964) ne distingue plus dans l'ordre des Capparidales, qu'il avait créé en 1959, que deux familles : les Capparidaceae et les Moringaceae.

Les subdivisions au sein même de la famille des Capparidaceae sont elles aussi subi des modifications importantes.

ENDLICHER (1841) considérait deux tribus : les Cleomeae et les Cappareae. Plus tard BAILLON (1872) essaie de former une tribu avec le genre Maerua ; PAX (1891) distingue cinq sous-familles.

En conclusion, ces diverses tentatives de taxinomie n'ont pas conduit à des résultats satisfaisants ce qui justifie des travaux plus récents.

VI - RECENTS REMANIEMENTS DES CAPPARIDACEAE

A - CLASSIFICATION DE PAX ET HOFFMANN (1936)

Ces auteurs distinguent dans les Capparidaceae une centaine d'espèces rapportées à 45 genres et groupées en 8 sous-familles ; les Capparidoïdeae et les Cleomoïdeae comportant à elles seules 37 genres.

Les caractères de ces sous-familles sont les suivants :

1 - Capparidoïdeae (Tableau III)

Arbres ou arbrisseaux, rarement des lianes. Etamines en nombre variable, souvent élevé. Fruit sans replum, sec ou charnu, indéhiscent, aptère : 4 tribus.

1.1.Capparideae

Arbres ou arbustes, parfois lianes. Fleurs construites sur le type 4. Absence de poils glandulaires et de résine dans l'écorce.

1.2.Koeberlinieae

Buissons aphylles avec rameaux épineux. Fleurs de type 4. Poils glandulaires et écorce résineuse.

1.3. Maerueae

Arbres ou arbrisseaux. Fleurs à capsule réceptaculaire en forme de cloche ou de cylindre.

1.4. Stixeae

Fleurs sans capsule réceptaculaire, construites non plus sur le type 4 mais dont chaque verticille comporte au moins 6 pièces.

2.- Emblingioïdeae

Arbrisseaux. Pétales caliciformes. 8 à 10 étamines dont 4 à 6 réduites à des staminodes. Fruit sec sans replum, indéhiscent.

1 seul genre : Emblingia.

3 - Pentadiplandroïdeae

Arbrisseaux ou lianes. 10 à 13 étamines. Baie.

1 seul genre : Pentadiplandra.

4 - Calyptrothecoïdeae

Arbustes. 40 à 60 étamines. Fruit : capsule à déhiscence étoilée.

1 seul genre : Calyptrotheca.

5 - Podandrogynoïdeae

Arbustes. 6 étamines. Fruits sans replum, déhiscent, ressemblant à de petits pois.

1 seul genre : Podandrogyna.

6 - Dipterygioïdeae

Arbustes ou arbrisseaux. 6 étamines. Fruits ressemblant à de petites noix, ayant 1 à 2 graines.

2 genres :

6.1. Epicarpe épais, dur, ailé : Dipterygium

CAPPARIDOIDEAE

Pax et Hoffman 1936

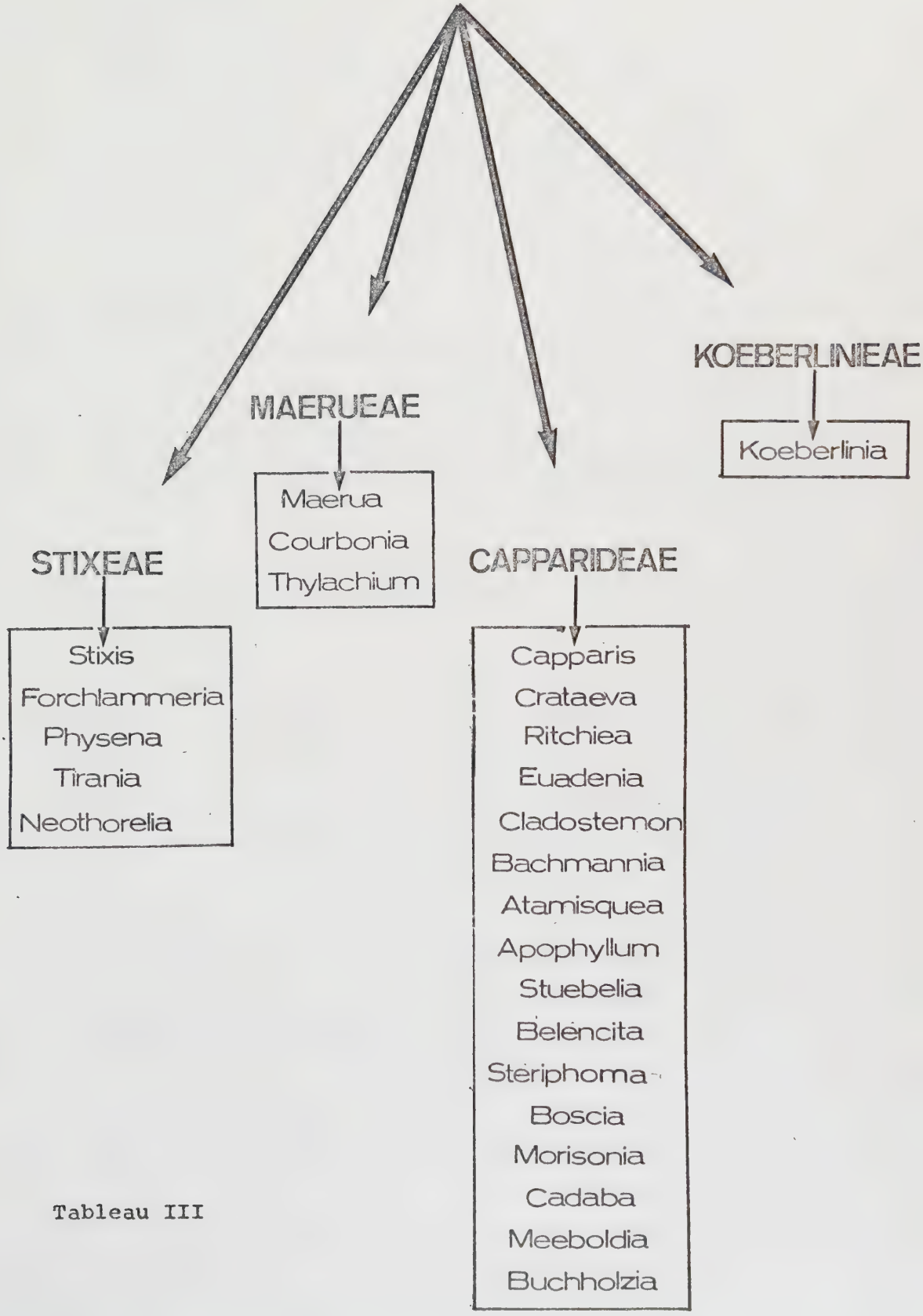


Tableau III

6.2. Epicarpe non ailé, intérieur spongieux : Puccionia.

7 - Buhsioïdeae

Fruit sec sans replum, plusieurs graines.

2 genres :

7.1. Fruit boursouflé. Asie. Buhsia

7.2. Fruit sans boursouflure. Somalie. Stefaninia.

8 - Cleomoïdeae

Fruit sec déhiscent, avec replum.

12 genres : Cleome, Isomeris, Cleomella, Wislizenia, Oxystylis, Gynandropsis, Justago, Tetratelia, Dactylaena, Haptocarpum, Cristatella, Physostemon.

B - CLASSIFICATION DE AIRY SHAW (1966)

Contrairement à PAX et HOFFMANN (1936), dont la classification comportait 8 sous-familles, AIRY SHAW (1966) ne discerne plus que quatre sous-familles dans les Capparidaceae, groupant 30 genres et 650 espèces. L'auteur distingue les différentes sous-familles selon le type de fruits.

1 - Capparidoideae

Baie ou drupe

2 - Podendrogynoïdeae

Capsule déhiscente sans replum

3 - Dipterygioïdeae

Fruit ailé ou non à 1 ou 2 graines.

4 - Buhsioïdeae

Fruit vésiculeux à plusieurs graines.

Les autres sous-familles de la classification de 1936 sont devenues des familles indépendantes : les Cleomaceae, les Emblingiaceae, les Pentadiplandraceae.

- Cleomaceae (PAX), AIRY SHAW

Composée de 12 genres et 275 espèces, essentiellement tropicale et subtropicale, cette famille comprend des herbes annuelles, quelquefois des arbustes, des arbres ou des lianes. Intermédiaire entre les Capparidaceae et les Crucifereae-Stanleyeae, les Cleomaceae se différencient de la première famille par un indumentum glanduleux et la présence de fruits "cruciféroïdes". Par ailleurs elles diffèrent des Crucifereae par les feuilles composées de 3 à 7 folioles, les fleurs souvent zygomorphes et l'androcée rarement tétradyname.

x
x x

L'ancienne sous-famille des Calyptrothecoïdeae PAX et HOFFMANN est classée dans les Portulacaceae Juss.

x x x

- Emblingiaceae (PAX), AIRY SHAW

Famille australienne formée de sous-arbrisseaux prostrés, peu lignifiés, ressemblant aux Scaevola (Goodeniaceae). Tige hispide. Feuilles opposées ou subopposées, simples, entières, losangiques, bords cartilagineux, rugueux, très dentelés, à stipules minimes.

Fleurs solitaires, axillaires, verdâtres ou jaunâtres, 5 sépales inégaux, 2 pétales latéralement connés, en forme de capuchon à l'apex, extérieurement soyeux. Androgynophore rectiligne, aplati, incurvé, inséré dans la fente des sépales ; 8 à 9 étamines courbes, les 4 antérieures fertiles, les 4 à 5 postérieures transformées en staminodes. 1 carpelle, 1 ovule basal, stigmate sessile.

Fruit sec, indéhiscent, graines exalbuminées plus ou moins aplaties, à embryon droit.

1 seul genre : Emblingia.

Cette famille possédant un androgynophore et un embryon condupliqué s'apparente aux Capparidaceae mais en diffère nettement par tous les autres caractères. La disposition des pétales et sépales peut suggérer une affinité probable avec les familles sympétaliques telles que les Goodeniaceae, Scrophulariaceae, Verbenaceae, etc., mais le pollen plaiderait pour un éventuel rattachement aux Polygalaceae.

- Pentadiplandraceae HUTCH. et DALZ.

Cette famille ne comporte que des espèces africaines. Ce sont des arbustes ou lianes, à feuilles alternes,

simples, à limbe lancéolé, acuminé.

Les fleurs unisexuées disposées en grappes axillaires possèdent 5 sépales valvaires, 5 pétales imbriqués connivents ou rattachés à une base épaisse en forme d'écaille ou de griffe ; 9 à 13 étamines, insérées à l'intérieur d'un disque cupuliforme épais et charnu, à filets ténus et anthères basifixes.

Le gynécée, courtement stipité, comporte 3 à 5 carpelles, formant un ovaire pluriovulé, les ovules axiles étant disposés en 2 à 3 rangées dans chaque loge, le style allongé est terminé par un stigmate à 5 lobes.

On observe 10 staminodes filiformes chez la fleur ♀ tandis que chez la fleur ♂ le pistil est avorté.

Le fruit est une baie globuleuse avec des écailles brunâtres, les graines sont nombreuses et petites.

C - CLASSIFICATION DE HUTCHINSON (1967)

HUTCHINSON (1967) voit dans les Capparidaceae 440 espèces réparties en 32 genres. Cette famille ne comporte plus que deux des huit sous-familles figurant dans la classification de PAX et HOFFMANN (1936) : Capparoïdeae et Emblingioïdeae.

Les Capparidaceae selon HUTCHINSON (1967) comprennent trois tribus. Les Cappariideae et les Cadabeae ont des

fleurs hermaphrodites et possèdent plus de deux ovules mais les Cadabeae sont en général apétales. Les Apophylleae ont des fleurs unisexuées, les ♀ possédant 1 à 2 ovules.

- Capparideae

Feuilles simples ou composées. Pétales libres, en nombre supérieur à deux. Sépales libres ou courtement soudés à la base, les sépales externes étant rarement unis.

1 - Feuilles simples

1.1. Sépales imbriqués, disposés en 2 verticilles

a) Etamines nombreuses, toutes fertiles

/ Stigmate sessile ou subsessile
Ovaire ordinairement longuement stipité.
Les stipules lorsqu'elles existent, sont réduites à des épines.

1 Sépales externes libres, disque glandulaire présent ou absent

1. Capparis

2 Sépales externes soudés, disque lobé subquadrifide, de forme ovale, légèrement denté

2. Neocalytrocalyx

/ Stigmate sur un long style
Ovaire subsessile

3. Tirania

b) Nombreuses étamines dont 6 seulement sont fertiles. 2 sépales externes valvaires, sépales internes petits, spatulés. Arbres écailleux à fleurs solitaires ou groupées et feuilles oblongues étroites

4. Atamisquea

c) Etamines : 4 à 8, toutes fertiles. Arbustes glabres ou finement glanduleux. Fleurs solitaires ou disposées en inflorescences corymbiformes, 2 sépales externes valvaires

22. Cadaba (p.p.)

1.2. Sépales valvaires en un seul verticille

a) Sépales fermés autour des pétales dans le bouton. Indumentum écailleux. Baie allongée, souvent toruleuse. Pas de stipules.

5. Quadrella

b) Indumentum étoilé. Baie plus ou moins ellipsoïde ou globuleuse. Pas de stipules.

6. Colicodendron

c) Indumentum étoilé. Fruit droit toruleux. Présence de stipules.

7. Oceanopapaver

1.3. Sépales ouverts dans le bourgeon et souvent plus petits que les pétales. Baie allongée

a) Feuilles stipulées ; l'indumentum, lorsqu'il existe, est composé de poils simples

8. Capparidastrum

b) Feuilles non stipulées. Indumentum étoilé. Sépales, soit triangulaires, soit linéaires.

9. Linnaeobreynia

2 - Feuilles composées : 2 à 5 folioles

2.1. Sépales imbriqués

a) Inflorescences corymbiformes ou en panicules

/ Stigmate sessile. 4 pétales. Fleurs de couleur vive, en inflorescences axillaires ou terminales.

10. Crateva

/ Stigmate sur un long style. 6 pétales plus petits que les sépales. Fleurs petites en panicules pyramidales subterminales

11. Neothorelia

b) Inflorescence en racèmes. 5 pétales. Disque cupuliforme

12. Poilanedora

2.2. Sépales valvaires en un seul verticille

a) Androgynophore très court ou absent. Etamines libres

/ Torus sans appendice. Inflorescences corymbiformes. Pétales longs, subégaux. 12 étamines ou plus.

13. Ritchiea

/ Torus à appendice de grande taille. Inflorescence en cymes terminales. 2 pétales très longs. 5 à 7 étamines.

14. Euadenia

b) Androgynophore très long. Androcée diadelphe : un groupe formé d'étamines courtes et stériles à la base de l'androgynophore, l'autre groupe composé d'étamines longues et fertiles au sommet de

l'androgynophore. 2 paires de pétales de taille inégale

15. Cladostemon

2.3. Sépales soudés en un tube

a) Fruit plus ou moins arrondi ou ellipsoïde. Amérique tropicale

/ Fleurs solitaires, calice fendu sur un côté ; glandes du disque réniformes

16. Belencita

/ Fleurs grandes en racèmes terminaux

1 Etamines environ 16 ; placentation pariétale ; calice irrégulièrement fendu, bilobé au sommet. Disque hémisphérique

17. Stuebelia

2 6 étamines ; 2 placentas atteignant la région centrale de l'ovaire qui est ainsi biloculaire ; calice gamosépale divisé en 2 à 4 lobes au sommet

18. Steriphoma

/ Fleurs petites en inflorescences latérales ou terminales portées par les rameaux âgés défeuillés.

1 Calice s'ouvrant irrégulièrement. Fruit courtement stipité, corymbes axillaires et terminaux

19. Morisonia

2 Calice à bords réguliers légèrement lobé. Fruit longuement stipité. Racèmes terminaux.

20. Beautempsia

b) Fruits allongés avec des loges transversales. 1 graine par loge. Ancien Monde.

21. Maerua (p.p.)

c) Pétales soudés et réduits à 2. Arbrisseaux à feuilles opposées ou subopposées. 1 ovule. Australie.

22. Emblingia

- Cadabeae

1 - Sépales imbriqués ou en 2 verticilles

a) Drupe à 1 ou 2 graines. Fleurs axillaires en longs panicules ou en racèmes. Nombreuses étamines.

23. Stixis

b) Baie cylindrique ou ellipsoïde avec plusieurs graines

/ Nombreuses étamines. Arbres. Feuilles larges. Fleurs en racèmes allongés. Sépales imbriqués.

24. Buchholzia

/ Etamines en nombre réduit. Arbrisseaux à petites feuilles. Inflorescences corymbiformes ; les 2 sépales externes valvaires

25. Cadaba

2 - Sépales valvaires en un seul verticille

a) Calice calyptriforme dans le bouton floral se divisant latéralement par la suite ; feuilles à 1-3 folioles

/ Ovaire à 6-10 placentas ; baie oblongue, striée sur toute la longueur, nombreuses graines

26. Thylachium

/ Ovaire à 2 placentas. Fruit ovoïde ou toruleux longuement stipité, graines peu nombreuses, parfois uniques.

21. Maerua (p.p.)

b) Calice non calyptriforme, normalement lobé

/ Fleurs sur les rameaux feuillés ; présence d'un androphore et d'un gynophore

1 Nombreuses étamines, fleurs axillaires, solitaires ; feuilles simples

27. Courbonia

2 8 à 20 étamines ; fleurs en racèmes ou corymbiformes ; feuilles simples

28. Boscia

3 8 étamines ; fleurs solitaires ou en petit nombre aux aisselles ; feuilles simples ou trilobées

29. Hypselandra

/ Fleurs en racèmes courts sur les rameaux âgés défeuillés. Feuilles composées digités à 3-5 folioles. Disque et androphore absents

30. Bachmannia

- Apophylleae

a) Arbrisseaux presqu'aphylles avec des stipules transformés en épines. Fleurs en racèmes.

Nord de l'Australie.

31. Apophyllum

b) Arbres. Fleurs unisexuées, en racèmes.

Amérique du Nord et Indes Occidentales

32. Forchhammeria

Tableau IV

CAPPARIDACEAE

Hutchinson 1967

APOPHYLLEAE

- Apophyllum
- Forchlammeria

CAPPARIDEAE

Feuilles simples

- Capparis
- Neocalyptrocalyx
- Tirania
- Atamisquea
- Cadaba (p-p)
- Quadrella
- Colicodendron
- Oceanopapaver
- Capparidastrum
- Linnaeobreynia

Feuilles composees

- Crataeva
- Neothorelia
- Poilanedora
- Ritchiea
- Euadenia
- Cladostemon
- Belencita
- Stuebelia
- Steriphoma
- Morisonia
- Beautempsia
- Maerua (p-p)
- Emblingia

CADABEAE

Sepales imbriques

- Stixis
- Buchholzia
- Cadaba (p-p)

Sepales valvaires

- Thylachium
- Maerua (p-p)
- Courbonia
- Boscia
- Hypselandra
- Bachmannia

DEUXIEME PARTIE

ETUDE CHIMIQUE DES CAPPARIDACEAE

TRAVAUX ANTERIEURS

HYDROCARBURES - ALCOOLS ALIPHATIQUES - TRITERPENES STEROLS

1) A notre connaissance, ces substances n'ont été recherchées que dans le travail de GAIND et JUNEGA (1969), qui isolent du n-pentacosane des tiges de Capparis decidua Edgew. (= C. Aphylla Roth).

2) Le seul alcool aliphatique reconnu des Capparidaceae est le n-tricontanal (GAIND et JUNEGA, 1969).

3) Le lupéol, alcool triterpénique, est rencontré dans les écorces de racines de Crateva nurvala Buch. Ham. (BHANDARI; DHAR, SHARMA, 1951) et les écorces de tronc de C. Roxburghii R. Br (= C. religiosa Forsk.) (BHANDARI et BOSE, 1954). Cet alcool triterpénique a été retrouvé à côté de l'α-amyrine et de l'acide bétulinique dans Crateva tapia L. par SOUZA, MATOS, ALENCAR et ROUGUARA (1971).

4) Quant aux stérols, seul le β-sitostérol a été isolé des espèces suivantes :

Capparis decidua Edgew (GAIND et ALii, 1969),
C. sepiaria L. (ADITYA CHAUDHURY et GHOSH, 1972),
Crateva religiosa Forsk. (BHANDARI et BOSE, 1954),
C. nurvala Ham. (BHANDARI et alii, 1951).

POLYPHENOLS

Mettant à profit la méthode d'identification des génines flavoniques après hydrolyse des hétérosides, BATE-SMITH (1962) identifie du quercétol dans les feuilles de quelques espèces de Capparidaceae, en particulier dans le genre Cleome. Cet auteur reconnait également la présence d'acide sinapique. Mais le Cleome gigantea L. C. et le Polanisia graveolens Rufin. contiennent un autre flavonol, le kaempférol, et de l'acide férulique.

Dans les feuilles et rameaux de Crateva religiosa Forsk? (= C. roxburghii R. Br.) ont été mis en évidence 9 flavonoïdes dont quercétol, isoquercitroside et rutoside. Ce dernier hétéroside flavonique est retrouvé dans les boutons floraux de Capparis spinosa L. Par ailleurs, GUPTA et DUTT (1938) isolèrent la monométhoxy-trihydroxy-flavone ou viscosine des graines de Cleome icosandra L. (= C. viscosa L.) et SHAW et SUKKAWLA en 1959 identifièrent une substance du groupe des catéchols dans les fruits non mûrs de Capparis moonii Wight.

On soulignera avec HEGNAUER (1964) et PELT (1966), l'absence de travaux faisant état de proanthocyanes dans la famille des Capparidaceae aussi bien que chez les Cruciferaeae.

BASES ALCALOIDIQUES

Depuis 1948, on savait que certains genres des Capparidaceae, en particulier Courbonis et Capparis contiennent des alcaloïdes, surtout à ammonium quaternaire (Tableau V).

On notera toutefois la présence de véritables alcaloïdes de structures non définies et d'un ester de choline, la sinapine, dont la présence est fréquente chez les Crucifereae.

Alcaloïdes isolés chez les Capparidaceae

Nom de l'espèce	Organe	Nature de la base	Auteurs
Courbonia virgata A. Brongn.	Tous	Hydroxy-tétraméthyl ammonium	HENRY 1948
	Racines	Diméthylamine hydroxy-tétraméthyl ammonium	HENRY et G GRINDLET 1949
		L-stachydrine (ester éthylique)	HENRY et KING 1950
	Graines	Hydroxy-3-stachydrine	CONFORTH et HENRY 1952
Courbonia pseudophylla Gilg. et Ben.	Racines	Hydroxy-tétraméthyl ammonium	
Capparis decidua Edgers	Racines	L-stachydrine autres bases ?	GAIND et JUNEGA 1969
Capparis monnii Wight	Fruits	L-stachydrine	
Capparis tomentosa Lam.	Fruits	Hydroxy-3-stachydrine (isomères cis et trans)	CONFORTH et HENRY 1952
Capparis sola Mc Bride	Feuilles	Hydroxy-tétraméthyl ammonium	

Tableau V

HETEROSIDES SOUFRES OU GLUCOSINOLATES

Découverts initialement dans les Crucifereae, ces hétérosides constituent une entité chimique particulièrement intéressante en raison d'une part de l'homogénéité de leur structure chimique et d'autre part du fait qu'ils sont spécifiques de plusieurs familles botaniques.

Leur structure de base est du type suivant :

$$R - \underset{\underset{N - O - SO_2^-}{\|}}{C} - S - Ose + X^+$$

L'ose est toujours du glucose, d'où l'appellation de glucosinolates donnée par KJAER (1953) à ces hétérosides. D'autre part le cation X^+ est variable : ce peut être, soit du potassium, soit de la sinapine, soit encore du tétra-méthyl-ammonium.

C'est à la présence de tels hétérosides qu'il faut rapporter l'odeur et la saveur brûlantes ainsi que les propriétés rubéfiantes de nombreuses Capparidaceae, connues depuis longtemps.

Dès 1955 KJAER entreprit l'étude chimique des glucosinolates de diverses espèces asiatiques de cette famille. Cet auteur constate que l'odeur particulière des graines fraîches de Cleome viscosa L. et de Gynandropsis

pentaphylla DC. est due à l'hydrolyse d'hétérosides soufrés. Parmi eux la glucocapparine, prépondérante dans cette famille botanique, est isolée des graines de Cleome spinosa Jacq. (= C. pungens) (KJAER, 1954) ; par hydrolyse cet hétéroside fournit l'isothiocyanate de méthyle. Celui-ci peut être obtenu également à partir des feuilles et des boutons floraux de Capparis spinosa L. (DELAVEAU, 1958).

En 1963 KJAER et ses collaborateurs peuvent faire le bilan de leurs recherches sur les hétérosides soufrés de la famille des Capparidaceae conçue selon PAX et HOFFMANN. Dans les 38 espèces étudiées, ils font état de 6 glucosinolates dont quatre : glucocapparine (KJAER 1955), glucocapanguline (KJAER et coll. 1960), glucocleomine (KJAER et THOMSEN 1962, a) et glucocappasaline (KJAER et THOMSEN 1962, b) paraissent spécifiques, tandis que les deux autres se retrouvent dans d'autres familles : glucoputranjivine signalée déjà chez une Euphorbiaceae, Putranjiva roxburghii Wall. (KJAER et FRIIS, 1962) et glucocochléarine initialement rencontrée chez une Crucifereae : le Cochlearia officinalis L. (GADAMER, 1899).

Depuis cette époque les études se sont multipliées. En 1968 BROWN et STUART isolent des feuilles de Capparis ferruginea L., la glucocapparine ; ils retrouvent ce même glucoside, le plus fréquemment rencontré chez les Capparidaceae, dans les feuilles de C. flexuosa L. qui contiennent également de la gluconorcappasaline. Mais, étudiant cette dernière espèce, c'est du benzyl-glucosinolate qu'isolent GMELIN et KJAER en 1970. Peut-être la divergence

des résultats s'explique-t-elle par la différence des milieux géographiques : les plantes utilisées par KJÆR provenaient de la Colombie tandis que celles de BROWN venaient de la Jamaïque. En 1971, s'étant procurés de nouveaux échantillons de plantes de cette dernière région, KJÆR et SHUSTER isolent, à partir des feuilles, la goirrine et d'autres hétérosides soufrés considérés jusqu'à présent comme spécifiques des Crucifereae. Leur présence est ensuite confirmée par AHMED, RIZK, HA MOUDA et SEIFEL-NASR (1970) dans plusieurs Capparis.

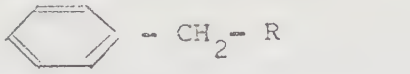
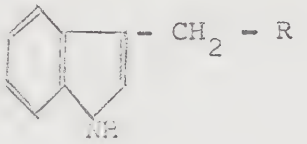
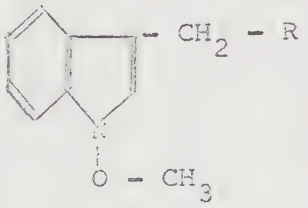
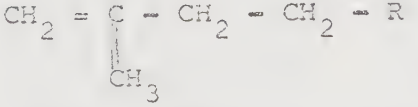
Jusqu'à présent il a été reconnu 18 sortes d'hétérosides soufrés dans les Capparidaceae (Tableau VI)

Tableau VI

HETEROSIDES SOUFRES ISOLES DANS LA FAMILLE DES CAPPARIDACEAE

	Dénomination	Nomenclature	Formule	Référence
1	Glucocapparine (a)	Méthyl-glucosinolate	$CH_3 - R^*$ $^*R = -C(-S-Gl)=NOSO_3^-$	KJÆR (1955)
2	Glucoputranjivine (a)	Méthyl-2-butyl-glucosinolate	$CH_3 - CH(C_2H_5) - CH_2 - R$	KJÆR & FRIIS (1962) DELAVEAU & KJÆR (1963)
3	Glucocochléarine (a)	Méthyl-3-propyl-glucosinolate	$CH_3 - CH_2 - CH(CH_3) - R$	GADAMER (1899) KJÆR & HANSEN (1957)
4	Glucocléomine (b)	Hydroxy-éthyl-2-propyl-glucosinolate	$CH_3 - C(C_2H_5)(OH) - CH_2 - R$	KJÆR & THOMSEN (1962)
5	Sinigrine (c)	Allyl-glucosinolate	$CH_2 = CH - CH_2 - R$	SCHNEIDER (1932)

	Dénomination	Nomenclature	Formule	Référence
6	Gluconapine	Butényl-3-glucosinolate	$CH_2 = CH - CH_2 - CH_2 - R$	ETTLINGER & HODKINGS (1955)
7		Hydroxy-3-butyl-glucosinolate	$CH_3 - \underset{\displaystyle OH}{\underset{\displaystyle |}{CH}} - CH_2 - CH_2 - R$	KJÆR & SCHUSTER (1971)
8		Hydroxy-4-butyl-glucosinolate	$\underset{\displaystyle OH}{\underset{\displaystyle |}{CH_2}} - CH_2 - CH_2 - CH_2 - R$	KJÆR & SCHUSTER (1971)
9	Glucorapiferine (Progoitrine) (f)	Hydroxy-2-buténył-3-glucosinolate	$CH_2 = CH - \underset{\displaystyle OH}{\underset{\displaystyle |}{CH}} - CH_2 - R$	GREER (1956) DAXENBICHLER & al. (1965)
10	Glucoibérine (a)	Méthyl-sulfinyl-3-propyl-glucosinolate	$CH_3 - SO - CH_2 - CH_2 - R$	KJÆR & GMELIN (1956)
11	Glucocapanguline (a)	Céto-4-heptyl-glucosinolate	$CH_3-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle O}{\underset{\displaystyle \|}{C}}-CH_2-CH_2-CH_2-R$	KJÆR , THONSEN & HANSEN (1960)
12	Glucocappasaline (a)	Céto-4-héxyl-glucosinolate	$CH_3-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle O}{\underset{\displaystyle \|}{C}}-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-R$	KJÆR & THONSEN (1962)
13	Gluconorcappasaline	Céto-3-heptyl-glucosinolate	$CH_3-CH_2-\underset{\displaystyle O}{\underset{\displaystyle \|}{C}}-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-R$	KJÆR & THONSEN (1963)

	Dénomination	Nomenclature	Formule	Référence
14	Glucotropéoline (a)	Benzyl-glucosinolate		GADAMER (1899)
15	Sinalbine (c)	p. hydroxy-benzyl-glucosinolate		KJÆR & RUBINSTEIN (1954)
16	Glucobrassicine (e)	Méthyl-3-indoxyl-glucosinolate		GMELIN & VIRTANEN (1961)
17	Gluconorbrassicine (d)	n.méthoxy-méthyl-3-indoxyl-glucosinolate		GMELIN & VIRTANEN (1962)
18		Méthyl-3-butényl-3-glucosinolate (e)		KJÆR & WAGNIERES (1965)

(a) = isolé sous forme de dérivé tétra-écétylé
(b) = isolé après hydrolyse enzymatique
(cléomine=méthyl-éthyl-5-oxazolidine-thione)
(c) = isolé à l'état naturel

(d) = isolé sous forme de sel de brucine
(e) = isolé sous forme de sel de tétra-méthyl-ammonium
(f) = isolé après hydrolyse enzymatique
(goitrine L viny 5-oxazolidine-thione)

Tableau VII

Répartition des Glucosinolates connus chez les Capparidaceae

GENRES ET ESPECES	Partie utilisée	GLUCOSINOLATES ISOLES																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Boscia fischeri Pax	E_T	+																	
Capparis angulata Ruiz et Pav.	G		+									+							
Capparis baducca L.	F	+																	
Capparis cartilagenea Dec.	E_T		+	+															
Capparis flexuosa L.	F	+													+				
Capparis ferruginea Willd.	F	+																	
Capparis galeata Fresen.	E_T, F		+	+															
Capparis hastata Jacq.	F	+																	
Capparis inermis Forsk.	G	+																	
Capparis Linearis Jacq.	F																		+
Capparis mitchellis Lindl.	F			+											+				
Capparis nobilis F. Muell.	F	+																	
Capparis odoratissima Jacq.	F	+																	
Capparis ovalifolia Ruiz et Pav.	G	+																	

Capparis ovata var. palestina Zoh	T	+			+			+		+	+	+					+		
Capparis quiniflora DC.	F	+																	
Capparis rupestris Sibth. et Sm.	F	+																	
Capparis salicifolia Griseb.	G											+							
Capparis spinosa L.	G, F	+			+														
Capparis spinosa var. eagyptia (Lam) Boiss.	T	+			+	+					+								
Capparis spinosa var. deserti Zoh.	T	+			+	+					+						+		
Capparis tuerickheimii Donn. Smith	G	+																	
Capparis tweediana Eichl.	R	+																	
Cleome arabica L.	G	+			+														
Cleome arborea Schrad.	G	+			+														
Cleome gigantea L,	G	+			+														
Cleome graveolens (Raf.) Schultes	G	+			+														
Cleome integrifolia Torr. et Gray	G	+			+														
Cleome machycarpa Raf.	G	+			+														
Cleome monophylla L.	G	+																	
Cleome ornithopodioides L.	G	+			+														

Cleome pilosa Benth.	G	+			+														
Cleome rosea Vahl.	G	+																	
Cleome speciosissima Deppe	G	+			+														
Cleome spinosa Jacq.	G	+			+														
Cleome trachysperma (Torr. et Gray) Pax et Hoffm.	G	+			+														
Cleome viscosa L.	G	+			+														
Crateva roxburghii R. Br.	E F	+																	
Crateva tapia L.	G	+			+														
Gynandropsis gynandra Briq.	G	+																	
Gynandropsis speciosa DC.	G	+																	
Maerua aethiopica (Fenz) Oliv.	G, R, F	+																	
Maerua hoehnelii Schweinf.	E, R, F	+																	
Maerua pubescens (Klotzsch) Gilg	E_T F	+																	
Ritchiea albersii Gilg.	E_T R	+																	
Thylachium africanum Lour.	R	+																	
Thylachium thomasii Gilg.	E, R, F	+																	

REF :) KJÆR et THOMSEN (1963)
(AHMED ; RIZK, HAMMOUDA et SEIF EI-NASR (1972=

E_T = Ecorces de Tronc ; F = Feuilles ; G = Graine ; R = Ecorces de Racine ; T = Tiges

TRAVAUX PERSONNELS

MATERIEL D'ETUDE

Notre matériel d'étude est constitué d'échantillons de plantes d'origines diverses. D'une part, nous avons effectué personnellement des récoltes au cours d'enquêtes ethnobotaniques en liaison étroite avec les Universités du Sénégal, de la Côte d'Ivoire et du Dahomey ; d'autre part, nous avons bénéficié des envois du laboratoire de Matière médicale de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Dakar, du Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences d'Abidjan et du Centre O. R. S. T. O. M. de Madagascar. Enfin, il nous a été possible de recevoir des échantillons en quantité appréciable de différentes collections : Graineterie et Laboratoire de Phanérogamie du Museum d'Histoire Naturelle de Paris ; Royal Botanic Garden of Kew ; Botanischer Garten Giessen ; Botanischer Garten der Stadt Essen ; Botanischer Garten DDR-15 Potsdam ; Botanischer Garten d'Universität Rennveg 14 Wien (Austria) ; Hortus Botanicus Universitatis, Uppsala, (Suecia) ; Hortus Botanicus Bergianus, Stockholm 50 ; Jardin Botanique de Dijon.

Nous exprimons toute notre gratitude aux directeurs de ces jardins botaniques.

Tableau VIII

Matériel d'étude

GENRES ET ESPECES	ORIGINE	STATION
Boscia madagascariensis Moust.	Madagascar	Forêt de Mikea
" senegalensis Lam.	Sénégal	Phare des Mamelles (près de Dakar)
Buchholzia coriacea Engl.	Côte d'Ivoire	Forêt du Banco (près d'Abidjan)
Cadaba farinosa Forsk.	Sénégal	Phare des Mamelles (près de Dakar)
Capparis albitrunca Bouch.		
" assamica Hook.	Laos	Environs de Thakhek
" biloba Hutch. et Dalz.	Côte d'Ivoire	35 km de Sifié
" corymbosa Lam.	Haute-Volta	
" erythrocarpos Isert.	Côte d'Ivoire	Forêt des Trois cocotiers (entre Grand Bassam et Port-Bouet)
" flavicans Kurz (Wall.)	Laos	Vientiane
" micracantha DC.	Laos	
" pentaphylla	Dahomey (S-E)	Forêt sacrée Dangho
" pyrifolia Lam.	Laos	Vientiane
" sepiaria Wall.	Laos	Vientiane
" tomentosa Lam.	Sénégal	Route de Rufisque

Capparis tweediana Eichl.	Amérique du Sud	Buenos Aires
" urophylla F. Chun	Laos	Xiengkhoumg
" zeylanica Linn.	Laos	Vientiane
Cladostemon paradoxus Br. et Watke		Rive droite du Zambèze
Crateva adansonii DC.	Laos	Pakse
" erythrocarpa Gagnep.	Laos	Kong
" graveana Baill.	Madagascar	
" nurvala Buch.	Sud Laos	
Euadenia eminens Hook.	Côte d'Ivoire	Forêt des Trois cocotiers (entre Grand Bassam et Port-Bouet)
" trifoliolata Oliv.	Côte d'Ivoire	Forêt du Banco (près d'Abidjan)
Maerua angolensis DC.	Haute-Volta	
" ovalifolia Cambess.	Inde	
Morisonia americana Linn.	Amérique du Sud	
Neothorelia Laotica Gagnep.	Mekong	
Poilanedora unijuga Gagnep.	Indochine	
Ritchiea capparoïdes Britt.	Côte d'Ivoire	Forêt des Trois cocotiers (entre Grand Bassam et Port-Bouet)
" reflexa Gilg et Benedict.	Côte d'Ivoire	Sifié
Steriphoma paradoxum Endl.	Amérique du Sud	
Stixis obtusifolia Baill.	Indochine	
" scandens Lour.	Laos	Vientiane
" suaveolens Roxb.	Laos	Takhek
Thylachium africanum Lour.	Mozambique	
Tirania purperea Pierre	Cochinchine	

METHODES GENERALES D'INVESTIGATION

INTRODUCTION

Le grand nombre de plantes nécessaires pour une étude chimiotaxinomique suppose le choix des critères chimiques qui servira à l'essai de classification. D'où la nécessité d'un large triage (screening) qui fait appel à des méthodes simples, rapides, exigeant un équipement restreint, surtout si l'on opère sur les lieux de récolte, assez sélectives cependant pour la classe de produits chimiques que l'on recherche, donnant enfin une appréciation grossièrement quantitative.

Cette préoccupation est assez récente. A notre connaissance les premières publications à ce sujet sont celles de WEBB, pour les plantes australiennes (1949) puis celles de la Nouvelle Calédonie (1955). ARTHUR et CHEUNG (1960) recherchent les alcaloïdes de 332 plantes de la flore de Hong-Kong.

Dans le domaine des flavonoïdes PARIS et NOTHIS (1969) indiquent les résultats de leurs recherches systématiques utilisant la réaction de la cyanidine pour détecter le noyau benzo- γ -pyrone. De même les saponosides

stéroïdiques peuvent être recherchés en utilisant le protocole de WALL (1955). FARNSWORTH (1966) a passé en revue un grand nombre de procédés de "screening" pour la détection et l'isolement des substances intéressantes, procédés qui sont actuellement d'un emploi habituel dans les laboratoires de phytochimie.

STEROLS ET TRITERPENES

C'est la réaction de LIEBERMANN-BURCHARD qui permet, sur un extrait éthéré brut, d'explorer en bloc la présence de stérols et de triterpènes.

Un échantillon d'environ 1 g de plante broyée est mis à macérer en flacon bouché dans 20 ml d'oxyde d'éthyle pendant 24 h. Quelques gouttes de la solution éthérée sont évaporées sur un verre de montre. Le résidu est dissous dans II gouttes d'anhydride acétique. L'addition d'une goutte d'acide sulfurique concentré pur développe, en un temps variable selon les produits stéroliques ou triterpéniques présents, une coloration mauve virant au vert ; un essai comparatif est fait avec l'acide sulfurique seul et la coloration éventuelle est notée.

Un résultat négatif pour ces deux tests indique l'absence ou la présence en quantité non appréciable de composés stéroliques ou triterpéniques.

SAPONOSIDES

En solution aqueuse les saponosides sont caractérisés par une mousse persistante obtenue dans des conditions normalisées.

Dans un tube à essais de 16 mm de diamètre et de 160 mm de hauteur on introduit 15 ml d'un décocté à 10 %. Le tube bouché, est tenu horizontalement, est agité avec soin pendant 10 secondes puis placé verticalement dans un portoir. Les résultats sont exprimés en centimètres, en fonction de la hauteur de la mousse obtenue après 15 mn de repos.

On pourrait éventuellement compléter ces données par la détermination de l'indice de mousse.

Selon la Pharmacopée Française, cet indice de mousse est le degré de dilution le plus poussé de l'extrait fournissant une mousse persistante : plus de 10 mm.

DERIVES FLAVONIQUES

La réaction de SHIBATA dite de la cyanidine permet de mettre en évidence flavones, flavonols et flavanones.

Cette réaction se réalise sur l'infusé à 10 % de plante sèche. A 3 ml de cet extrait aqueux est ajouté 5 ml d'alcool chlorhydrique (eau-alcool-acide chlorhydrique, 1-1-1, v/v). Après addition de quelques copeaux de magnésium, il se développe une coloration qui dépend du composé flavonique : rouge avec les flavonols, jaune avec les flavones et violette avec les flavanones. On réalise comparativement un témoin sans magnésium au bain-marie. Dans ce dernier cas, l'observation d'une coloration attesterait la présence de proanthocyanes.

PROANTHOCYANES.

Selon la méthode de BATE-SMITH et METCALFE, les proanthocyanes incolores sont oxydées en anthocyanes correspondants par action de l'acide chlorhydrique à chaud.

Un échantillon de 1 g de plante pulvérisée est mis à digérer dans l'acide chlorhydrique 2 N en présence de propanol pendant 15 à 30 mn. Le lent développement d'une coloration allant du rouge au violet signe la présence de proanthocyanes ou de catéchols.

TANINS

Les tanins fournissent des réactions colorées ou des précipités avec les réactifs suivants :

- solution aqueuse de chlorure ferrique à 1 %
- solution aqueuse de gélatine salée à 10 %

Ces différentes réactions sont effectuées sur un décocté à 10 %.

QUINONES

Les quinones libres donnent en milieu franchement alcalin une coloration allant du rouge au violet.

Dans une fiole conique, on introduit un échantillon d'environ 5 g de l'organe broyé, quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué au 1/5 et 30 ml du mélange éther-chloroforme, 1-1, v/v. La fiole bouchée est agitée de temps en temps au cours des 24 h. La phase liquide est filtrée sur papier et 2 ml du filtrat sont agités avec 2 ml de solution d'hydroxyde de sodium dilué au 1/10. En présence de quinone on obtient une coloration allant du rouge au violet.

Pour identifier le groupe de la quinone présente on évapore 5 ml de la phase liquide précédemment obtenue à l'air libre dans une capsule ; le résidu est repris par quelques gouttes d'alcool. La solution alcoolique obtenue donne, en présence du réactif de BRISSEMORET et COLOMBES (solution aqueuse d'acétate de nickel à 5 %), une coloration variable selon la nature de la quinone.

Avec les benzoquinones on observe une coloration bleue et la formation d'un précipité ; avec les naphtoquinones une coloration violette sans précipité, tandis que les anthraquinones donnent une coloration rouge sans précipité.

ALCALOIDES

La recherche des alcaloïdes utilise les différences classiques de solubilité des bases et des sels dans les solvants organiques et dans l'eau, puis la formation de précipités caractéristiques avec les réactifs suivants : iodoioduré (BOUCHARDAT), iodo-bismuthique (DRAGENDORFF), iodo-mercurique (MAYER).

Un échantillon de 5 à 10 g de l'organe sec grossièrement pulvérisé est introduit dans une fiole conique et humecté de 2 ml d'ammoniaque dilué au 1/2 ; puis on ajoute 30 ml du mélange éther-chloroforme(3:1, v/v) ; la fiole bouchée est agitée de temps en temps pendant 24 h. Après filtration, la phase solvante est transvasée dans une ampoule à décantation et épuisée à trois reprises par 25 ml d'acide chlorhydrique dilué au 1/5. Les alcaloïdes sont recherchés sur les liqueurs acides au moyen des réactifs de BOUCHARDAT, de DRAGENDORFF, de MAYER qui fournissent des précipités respectivement brun, rouge-orangé et blanc crême. L'importance du précipité permet une appréciation grossière de la teneur en alcaloïdes.

Appréciation de la teneur en alcaloïdes à l'aide du réactif de Mayer

Allure du Précipité	Louche visible sur fond noir	Louche floculant lentement	Précipité immédiat	Précipité abondant immédiat
Notation conventionnelle	+ / −	+	+++	++++
Teneur p. 100 supposée	0,1	0,1-0,3	0,3	1

Tableau IX

GLUCOSIDES CYANOGENETIQUES

Les hétérosides cyanogénétiques s'hydrolysent facilement sous l'effet des enzymes de la plante pour libérer finalement de l'acide cyanhydrique volatil. Ce dernier est mis en évidence par la coloration rouge qu'il donne avec un papier imprégné de picrate de sodium par formation d'isopurpurate de sodium.

Un échantillon de 1 à 2 g de plante sèche pulvérisée est introduit dans le fond d'un tube à essais avec 1 ou 2 gouttes de toluène qui déclenche, s'il y a lieu, l'hydrolyse de l'hétéroside. On bouche le tube en introduisant à l'intérieur une bandelette de papier filtre imprégné extemporanément du réactif de GUIGNARD modifié par ARMSTRONG et par DILLEMANN. Le papier coloré en jaune clair prend une teinte rouge sous l'influence des vapeurs d'acide cyanhydrique par formation d'isopurpurate alcalin.

Cette coloration très sensible s'observe en quelques heures.

HETEROSIDES SOUFRES OU GLUCOSINOLATES

Solubles dans l'alcool chaud et l'eau froide, les hétérosides sont extraits des tissus qui les contiennent par le solvant alcool-eau (7 : 3, v/v) à l'ébullition. Tout en facilitant l'extraction des glucosinolates, ce solvant a le mérite de dénaturer la myrosinase capable, sans cette précaution, d'hydrolyser les hétérosides.

La solution obtenue permet une recherche et une identification des hétérosides soufrés par chromatographie descendante sur papier.

D'autre part, l'hydrolyse enzymatique conduit aux isothiocyanates correspondants, puis aux thiourées. Ces dernières contribuent très fréquemment à l'identification des hétérosides.

Un échantillon de 1 g de poudre d'écorce, préalablement privée des constituants liposolubles au moyen d'éther de pétrole est extrait au bain-marie bouillant par 10 ml de méthanol-eau (7 : 3, v/v) durant 30 mn en agitant constamment. Après refroidissement et filtration, l'extrait hydroalcoolique est soumis à une chromatographie

descendante sur papier Whatman 3 MM avec le solvant (1) ou la phase supérieure des solvants (2), (3) et (4).

- Dépot : 10 µl

- Solvants :
  (1) n-butanol-pyridine-eau, (6 : 4 : 3, v/v)
  (2) n-butanol-acide acétique-eau, (4 : 1 : 5, v/v)
  (3) n-butanol-acide acétique-eau, (4 : 1 : 3, v/v)
  (4) n-butanol-éthanol-eau, (4 : 1 : 4, v/v)

- Durée de migration : 70 heures

- Révélation :
  Le chromatogramme est immergé dans une solution acétono-aqueuse de nitrate d'argent (dissoudre 0,75 g de nitrate d'argent dans 10 ml d'eau et diluer par addition de 400 ml d'acétone).

  Après séchage à l'air, on pulvérise les deux faces du chromatogramme par le réactif : méthanol-lessive de soude (95 : 5, v/v). Les taches de glucosinolates apparaissent en brun. Elles noircissent après lavage du papier par l'acide nitrique très dilué (1 p. 1000) et séchage à 100°.

Tableau X

Résultats des essais préliminaires

GENRES ET ESPECES	Alcaloïdes	Het; soufrés	Flavon.	Proantho-cyanes	Quinones	Saponosides	Dérivés stéroliques
BOSCIA Madagascariensis Moust.							
Feuilles	+	+	+	-	O	O	+
BOSCIA senegalensis Lam.							
Feuilles	+	+	+	-	O	O	+
Tige	+	+	+	-	O	O	
Fruits	+	+					
BUCHHOLZIA Coriacea Engl.							
Feuilles	O	+	O	+	O	+	+
Ecorce de Tronc	O	+	O	+	O	+	+
Ecorce de Racine	O	+	O	+	O	+	+
Fruits	O	+	O	+	O	+	+
CADABA farinosa Forsk.							
Feuilles	+	+	+	O	O	+	+
Tiges	+	+	+	O	O	+	+
CAPPARIS albitrunca Burch.							
Ecorce de tronc	+	+	O	O	O	O	+
CAPPARIS assamica Hook.							
Feuilles	+	+	+	O	O	O	+
CAPPARIS biloba Hutch. et Dalz.							
Feuilles	+	+	+	O	O	O	O
Tige	+	+	O	O	O		

CAPPARIS corymbosa Lam.																			
Feuille		+		+		+												+	
Ecorce de racine		+		+		O		O		O		+						+	
CAPPARIS erythrocarpos Isert.																			
Feuilles		+		+		+		O		O								+	
Tige		+		+				O		O		+						+	
Ecorces de racine		+		+		+		O		O		O						+	
CAPPARIS flavicans Kurz (Wall.)																			
Feuilles		+		+		+		O		O		O						+	
CAPPARIS micracantha DC.																			
Feuilles		+		+		+		O		O		O						+	
CAPPARIS pentaphylla																			
		+		+		+													
CAPPARIS pyrifolia Lam.																			
Feuilles		+		+		+		O		O		O						+	
CAPPARIS sepiaria Wall.																			
Feuilles		+		+		+		O		O		O						+	
CAPPARIS tomentosa Lam.																			
Feuilles		+		+		+		O		O		O						+	
Tiges		+		+				+		O		O						+	
CAPPARIS Tweediana Eichl.																			
Ecorce de tronc		+		+				O		O		+						+	
CAPPARIS urpphylla F. Chun																			
Feuilles		+		+		+		O		O		O						+	
CAPPARIS zeylanica Linn.																			
Feuilles		+		+		+		O		O		O						+	

CLADOSTEMON paradoxus Br. et Wat.							
Feuilles	+	+	+	O	O	O	+
CRATEVA adansonii DC.							
Feuilles	+	+	+	O	O	O	+
CRATEVA erythrocarpa Gagnep;							
Feuilles	+	+	+	O	O	O	+
CRATEVA graveana Baill.							
Feuilles	+	+	+	O	O	O	+
CRATEVA nurvala Buch.							
Feuilles	+	+	+	O	O	O	+
EUADENIA eminens Hook.							
Feuilles	O	+	+	O	O	O	+
Tiges	O	+				+	+
Ecorce de racine	O	+				+	+
EUADENIA trifoliolata Oliv.							
Feuilles	O	+	+	O	O	O	+
Ecorce de tronc	O	+		O	O	+	+
Ecorce de racine	O	+	O	O	O	+	+
MAERUA angolensis DC.							
Feuilles	+	+	+	O	O	O	+
Ecorce de racine	+	+	O	O	O	+	+
Fruits	+	+		O	O		+
MAERUA ovalifolia Cambess.							
Ecorce de racine	+	+	O	O	O	+	+
MORISONIA americana Linn.							
Feuilles	+	+	+	O	O	O	+
NEOTHORELIA laotica Gagnep.							
Feuilles	+	+	+	O	O	O	+

POILANEDORA unijuga Gagnep.																
Feuilles	!	+	!	+	!	+	!	O	!	O	!	O	!	+	!	
RITCHIEA capparoïdes Britt.																
Feuilles	!	+	!	+	!	+	!	O	!	O	!	O	!	+	!	
Tiges	!	+	!	+	!		!	O	!	O	!		!	+	!	
Ecorce de racine	!	+	!	+	!	O	!	O	!	O	!	+	!	+	!	
RITCHIEA reflexa Gilg. et Bened.																
Feuilles	!	+	!	+	!	+	!	O	!	O	!		!	+	!	
Tiges	!	+	!	+	!		!	O	!	O	!	+	!	+	!	
STERIPHOMA paradoxum Endl.																
Feuilles	!	+	!	+	!	+	!	O	!	O	!	O	!	+	!	
STIXIS obtusifolia Baill.																
Feuilles	!	+	!	+	!	+	!	O	!	O	!	O	!	+	!	
STIXIS scandens Lour.																
Feuilles	!	+	!	+	!		!	O	!	O	!	O	!	+	!	
STIXIS suaveolens Roxb.																
Feuilles	!	+	!	+	!	+	!	O	!	O	!	O	!	+	!	
THYLACHIUM africanum Lour.																
Feuilles	!	+	!	+	!	+	!	O	!	O	!	O	!	+	!	
TIRANIA purpurea Pierre																
Feuilles	!	+	!	+	!	+	!	O	!	O	!	O	!	+	!	

Het. soufrés = Hétérosides soufrés

Flavon. = Flavonoïdes

ETUDE DE LA FRACTION LIPOSOLUBLE

L'extraction des divers constituants des lipides est rendue aisée du fait de leur grande solubilité en particulier dans l'éther de pétrole qui convient et a l'avantage de ne pas extraire en même temps d'autres substances qu'il faudrait ensuite séparer.

La même méthode générale a été appliquée à l'étude de tous les échantillons.

I - METHODES D'ETUDE.

A.) INTRODUCTION

On part d'un échantillon d'environ 300 g de matière première. L'extraction est réalisée dans un appareil de Soxhlet de 2 l au moyen d'éther de pétrole (P.E.= 40-65°). Après épuisement durant 12 heures la solution extractive est filtrée, le solvant chassé par distillation. Les dernières traces sont éliminées sous vide.

Bien que l'éther de pétrole soit un solvant très peu polaire, il peut dissoudre à chaud non seulement des substances non polaires mais aussi d'autres produits comme des alcools aliphatiques, triterpéniques et des stérols. Ceux-ci peuvent être soit à l'état libre, soit sous forme combinée. Dans ce dernier cas, il peut s'agir de combinaison de type ester. Ainsi KIRIBUCHI, MIZUNAGA et FUNAHASI (1966) ont signalé l'existence de glucosides de stérols liposolubles.

L'extrait lipidique a été soumis à l'action d'un alcali à chaud afin de préparer l'insaponifiable. Au cours de ces recherches, nous avons négligé l'étude de la fraction soluble dans l'eau après saponification (savons), ne prêtant intérêt qu'aux dérivés liposolubles.

B.) PREPARATION DE L'INSAPONIFIABLE

1) Saponification

Dans un ballon de 250 ml à col rodé, on introduit 5 g d'extrait liposoluble brut et 50 ml d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium à 5 %. On porte à une douce ébullition au bain-marie pendant deux heures sous réfrigérant à reflux. Après refroidissement, le contenu du ballon est transvasé dans une ampoule à décantation. On rince le ballon avec 100 ml d'eau, puis 100 ml d'oxyde d'éthyle.

2) Extraction de l'Insaponifiable

Elle se fait en agitant fortement l'ampoule et en séparant la phase éthérée. On renouvelle l'épuisement à deux reprises avec 100 ml d'oxyde d'éthyle.

3) Purification de l'Insaponifiable

Les solutions éthérées sont réunies en ampoule. L'insaponifiable est débarrassé des traces de savon et purifié par lavages successifs, avec 40 ml chaque fois.

- eau déminéralisée ;
- eau déminéralisée + X gouttes d'acide chlorhydrique concentré ;
- solution aqueuse à 3 % d'hydroxyde de potassium ;
- eau déminéralisée à plusieurs reprises, jusqu'à ce que l'eau de lavage ne colore plus en rose le phénol phtaléine.

Cette solution éthérée purifiée est séchée sur sulfate de sodium anhydre pendant une nuit. On concentre le solvant par

distillation jusqu'au volume résiduel d'environ 10 ml. On transvase ensuite dans un cristallisoir taré. Après évaporation à l'air libre, on obtient un résidu dont la consistance et la couleur dépendent de l'organe traité.

Dans ce domaine, cette étude a porté sur sept genres de Capparidaceae indiqués dans le tableau XI.

Pourcentage d'extraits liposolubles et insaponifiables de différentes Capparidaceae

Genres et Espèces	Organes	Extrait liposoluble en gp 100 d'organes	Insaponifiable en gp 100 d'extrait brut
Boscia senegalensis Lam.	E_T	0,8	55
Buchholzia coriacea Engl.	E_T	1,43	76
Cadaba farinosa Forsk.	E_T	1,02	42
Capparis biloba Hutch. et Dalz.	E_T	1,1	58
Euadenia eminens HooK.	E_T	1,21	60
Euadenia trifoliolata Oliv.	E_T	1,98	52
Maerua angolensis DC.	E_T	0,8	45
Ritchiea capparoïdes Britten.	E_T	1,00	35

E_T = Ecorces de Tronc.

Tableau XI

C.) ETUDE DE L'INSAPONIFIABLE

1) Chromatographie sur couche mince (C. C. M.)

Elle permet d'apprécier le nombre de constituants contenus dans l'insaponifiable.

a. Solution.-
0,5 g d'insaponifiable est dissous dans 2 ml d'oxyde d'éthyle.

b. Dépot.-
100 à 500 l de la solution, selon la richesse supposée de l'extrait en constituants recherchés, sur une longueur de 2 cm, comparativement à des témoins (Tétracosane, tricontanol, cycloeudénol, stigmasterol).

c. Adsorbant.-
On utilise des couches de silice G (0,25mm d'épaisseur) sur plaques de verre 20/20 cm préparées selon la technique de STAHL (1969).

d. Solvants de développement.-
I - Hexane-oxyde d'éthyle (1 : 1, v/v)
II - Hexane-acétate d'éthyle (8 : 2, v/v)
III - Toluène-chloroforme-éthanol absolu (30 : 5 : 5, v/v)
IV - Chloroforme-éthanol absolu (49 : 1, v/v)

e. Conditions de développement.-
On utilise des cuves (SHANDON 7,5 X 23 X 24) saturées : trois parois verticales de la cuve sont tapissées de papier filtre, et le solvant de développement est versé dans la cuve une heure avant utilisation.

f. Durée de migration.-

Les temps sont respectivement de 30, 45, 115 et 120 mn pour les solvants I, II, III et IV.

g. Révélation.-

Les révélateurs utilisés ne sont pas très spécifiques. On observe après chauffage à l'étuve des colorations qui dépendent des produits, de la température de l'étuve et du temps.

1. Acide sulfurique concentré dilué au 1/2 (étuve 110° - 15 mn).

2. Solution chloroformique saturée de trichlorure d'antimoine (étuve 118° - 5 mn).

3. Solution chloroformique de pentachlorure d'antimoine à 20 % (étuve 120° - 3 mn).

2) Chromatographie préparative sur couche mince

Le fractionnement chromatographique sur plaque de l'insaponifiable offre d'abord un intérêt analytique et, si les fractions séparées sont d'une pureté satisfaisante, la chromatographie peut devenir préparative pour une ou plusieurs groupes de constituants.

L'insaponifiable est mis en solution et déposé en bandes, en quantité compatible avec les limites de capacité de la couche de 0,25 mm. Après développement, les plaques sont révélées sur les deux bords et on localise ainsi le constituant qui sera gratté et élué par le chloroforme.

3) Chromatographie sur colonne

L'extrait sec d'insaponifiable mélangé à de la silice est mis au sommet d'une colonne, du même adsorbant monté dans l'hexane. L'élution est faite par l'hexane pur, puis par le mélange hexane-oxyde d'éthyle à polarité croissante.

Ce procédé permet d'isoler quatre sortes de produits : hydrocarbures - alcools aliphatiques - alcools triterpéniques - stérols.

II - ETUDE DES CONSTITUANTS DE L'INSAPONIFIABLE

On sait que la partie insaponifiable préparée à partir d'extrait lipophile des divers organes végétaux est composée d'un grand nombre de substances se rattachant à des structures chimiques variables telles que Hydrocarbures, alcools alophatiques, alcools, cétones et acides terpéniques, stérols, etc. Leur formation biogénétique a été expliquée à la suite de nombreux travaux récemment résumés par WALLER

Nous n'avons pu analyser ici la totalité des produits présents, en raison de leur multiplicité et de l'étendue de l'enquête systématique.

A.) HYDROCARBURES

Les hydrocarbures forment la fraction la moins polaire de l'insaponifiable et représentent un ensemble de constituants qui peuvent être classés en plusieurs groupes :

- n-alcanes ou n-paraffines
- iso alcanes ou iso paraffines
- alcènes
- hydrocarbures cycliques ou polycycliques.

Ce travail est uniquement consacré aux n-alcanes.

N-ALCANES

Ils sont séparés par chromatographie sur colonne de silice des autres constituants de l'insaponifiable après élution par l'hexane. Ils peuvent être également obtenus par chromatographie préparative sur couche mince de silice avec les solvants I et II. Le mélange de paraffines isolées est analysé qualitativement en phase gazeuse à température isotherme et programmée.

L'identification est rendue possible par addition de témoins internes de n paraffines en C_{18}, C_{24}, C_{28}.

L'injection de différents étalons de n paraffines nous a permis de vérifier la relation linéaire existant entre le temps de rétention et leur nombre d'atomes de carbone.

1) Conditions opératoires

a) Température isotherme

Appareil

Nous avons opéré avec un appareil de chromatographie en phase gazeuse type GIRDEL 75 CDS à double colonne, comportant

les pièces suivantes :

- Four 75-FD-2
- Electromètre 75-E-1
- Détecteur à ionisation de flamme
- Enregistrateur Techmation Servoriter II.

Colonne.

2 m. de long emplie d'une phase apolaire. Constituée d'un support de chromosorb imprégné à 10 % SE-30 ; 80/100 mesch, 1/8".

Conditions de fonctionnement.

Température d'injection		270°
"	du détecteur	240°
"	du four	230°

Gaz vecteur : Azote

Débit : 30 ml/mn

Déroulement de l'enregistreur : 10 cm/H

volume injecté : 1 μl d'une solution à 10 % dans le pentane.

b) Programmation

Les conditions sont les mêmes que précédemment, sauf la température du four que l'on fait varier de 140° C à 280° C à raison de 5° par minute.

2) Résultats

On constate une série de n-paraffines dont le nombre

d'atomes de carbone est compris entre C_9 et C_{33}. On rencontre généralement aussi les iso et anté iso paraffines correspondantes.

Les résultats des analyses sont résumés dans le tableau XII.

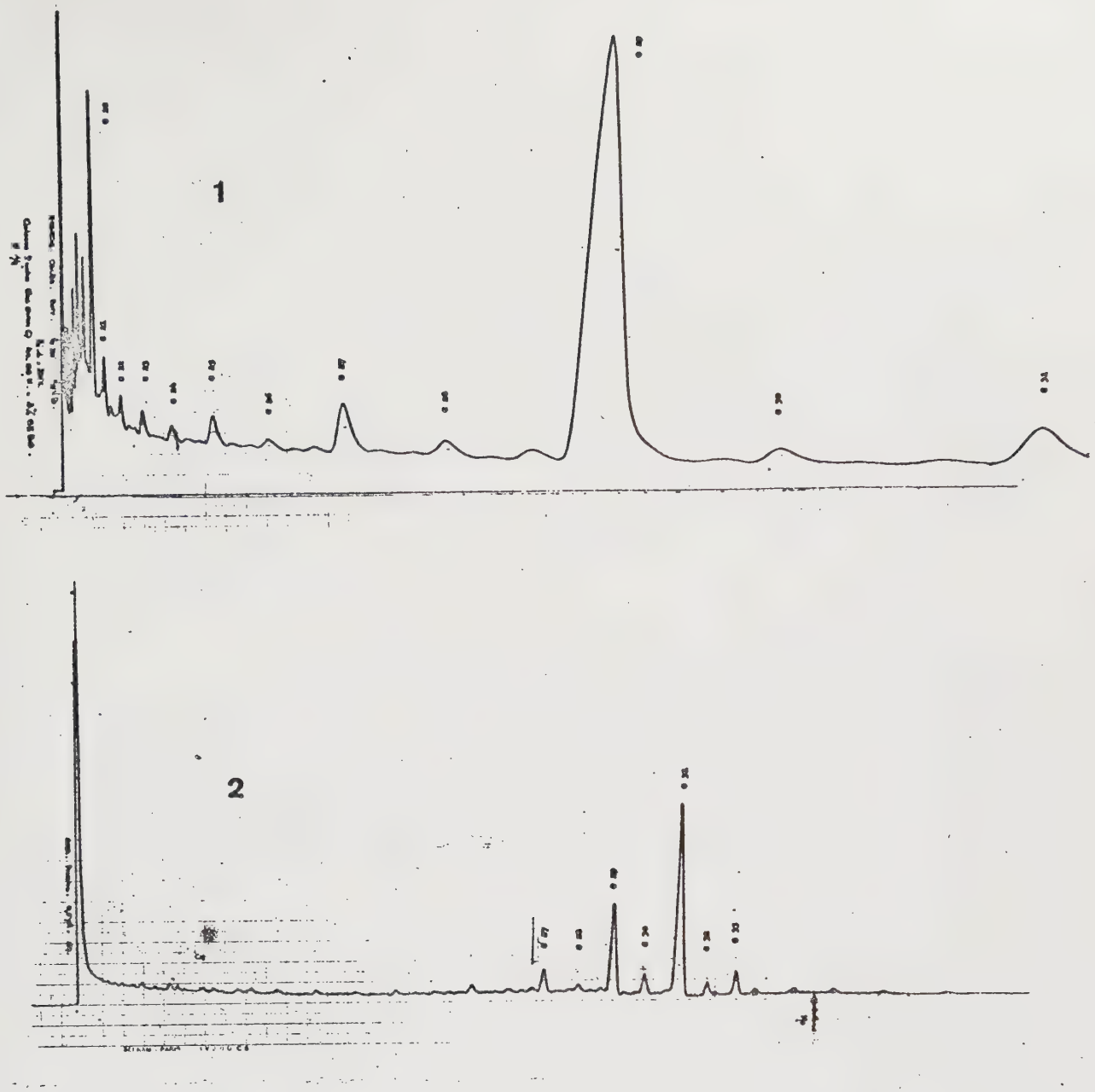
n alcanes mis en évidence chez 7 espèces de Capparidaceae

Genres et espèces	Nombre d'atomes de																								
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
Buchholzia coriacea Engl.	+	+	+	+	+	+																			
Euadenia trifoliolata Oliv.	+	+	+	+	+	+																			
Cadaba farinosa Forsk.						+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+
Boscia madasgariensis Moust.				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Capparis biloba Hutch. et Dalz.				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Ritchiea capparoïdes Britten;		+	+	+	+	+																			
Maerua angolensis DC.				+	+	+	+	+	+	+										+	+	+	+		+

\+ = Présence

\+ = abondance particulière

Tableau XII



Capparis biloba : Chromatographie en phase gazeuse des Hydrocarbures

1) Isotherme
2) Programmation

Figure n° 2

B.) ALCOOLS

Les composés constituant ce groupe appartiennent principalement à deux catégories : alcools aliphatiques et alcools triterpéniques. Si leurs structures sont différentes, ces produits possèdent cependant en commun certaines propriétés physico-chimiques. La présence du groupement hydroxyle permet l'obtention d'esters moins polaires que les molécules libres.

Chez les alcools triterpéniques, leur structure stérolique donne des réactions caractéristiques. Ainsi, on observe avec le trichlorure d'antimoine une coloration violette rose ou brune évoluant avec le temps. Le réactif de LIEBERMANN-BURCHARD fournit une coloration allant du jaune au brun.

a1 - Alcools aliphatiques

Leurs études analytiques sont réalisées dans les mêmes conditions que pour les hydrocarbures. On utilise comme témoins internes les alcools aliphatiques en C_9, C_{12}, C_{22}.

Résultats

Sur les sept espèces correspondant à 7 genres que nous avons étudiées les alcools aliphatiques identifiés sont rassemblés dans le tableau XIII.

Alcools aliphatiques mis en évidence chez les Capparidaceae

Genres et espèces	Nombre d'atomes de carbone										
	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	42
Cadaba farinosa Forsk.	+	+	+								
Boscia senegalensis Lam.			+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ritchiea capparoides Britten.								+			
Capparis biloba Hutch. et Dalz.					+			+			
Maerua angolensis DC.			+					+	+		

Tableau XIII

a2 - Alcools triterpéniques

1) Etudes chromatographiques

Elles sont réalisées sur des alcools triterpéniques obtenus soit de la chromatographie sur colonne de silice, soit par chromatographie préparative sur couche minde de silice.

a. Chromatographie sur couche minde de silice.-

Tous les alcools triterpéniques ont même Rf quel que soit le système de solvant utilisé. Ce qui ne permet pas de séparer par cette méthode un mélange d'alcools triterpéniques.

b. Chromatographie sur couche mince de silice imprégnée de nitrate d'argent.-

Ce sont des plaques de 0,25 mm d'épaisseur de silice G imprégnée de 5 % en poids de nitrate d'argent (IKAN, 1965). Les alcools triterpéniques peuvent être chromatographiés soit à l'état libre, soit à l'état de dérivés acetylés.

. Etat libre

Nous avons utilisé les solvants :

(I) = C_6H_6 - $CHCl_3$ (1 : 1 v/v)

(II) = C_6H_6 - $CHCl_3$ (2 : 1 v/v)

qui nous ont permis de distinguer le lupéol, α amyrine, β amyrine et le taraxastérol de référence en se basant sur leur différence de migration. Ce système de chromatographie est appliqué aux alcools triterpéniques que nous avons extrait de l'insaponifiable des Capparidaceae. Ceci nous a permis de dresser le tableau XIV.

Chromatographie sur couche mince de silice des Triterpènes à l'état libre

	Solvants	
	Rf I	Rf II
α amyrine	0,67	0,46
β amyrine	0,62	0,44
Lupéol	0,43	0,31
Taraxastérol	0,57	0,39
Buchholzia coriacea Engl.	0,42	0,30
Capparis biloba Hutch. et Dalz.	0,43	0,32
Euadenia eminens HooK.	0,43;0,67;0,62	0,31;0,46;0,43
" trifoliolata Oliv.	0,43;0,68;0,61	0,31;0,46;0,42
Maerua angolensis DC.	0,42	0,31
Ritchiea capparoïdes Britt.	0,41;0,57	0,31;0,39

Tableau XIV

. Sous forme de dérivés acétylés

- Acétylation

A 5 mg de produit dans une fiole conique de 100 ml on ajoute 5 ml de pyridine et 5 ml d'anhydride acétique. Ce mélange est laissé à la température du laboratoire durant une nuit. L'acétylation se produit ainsi à froid. On évapore à sec sous basse pression. Le résidu est lavé trois fois par du méthanol pour éliminer complètement la pyridine. Les alcools triterpéniques sont recristallisés dans le méthanol.

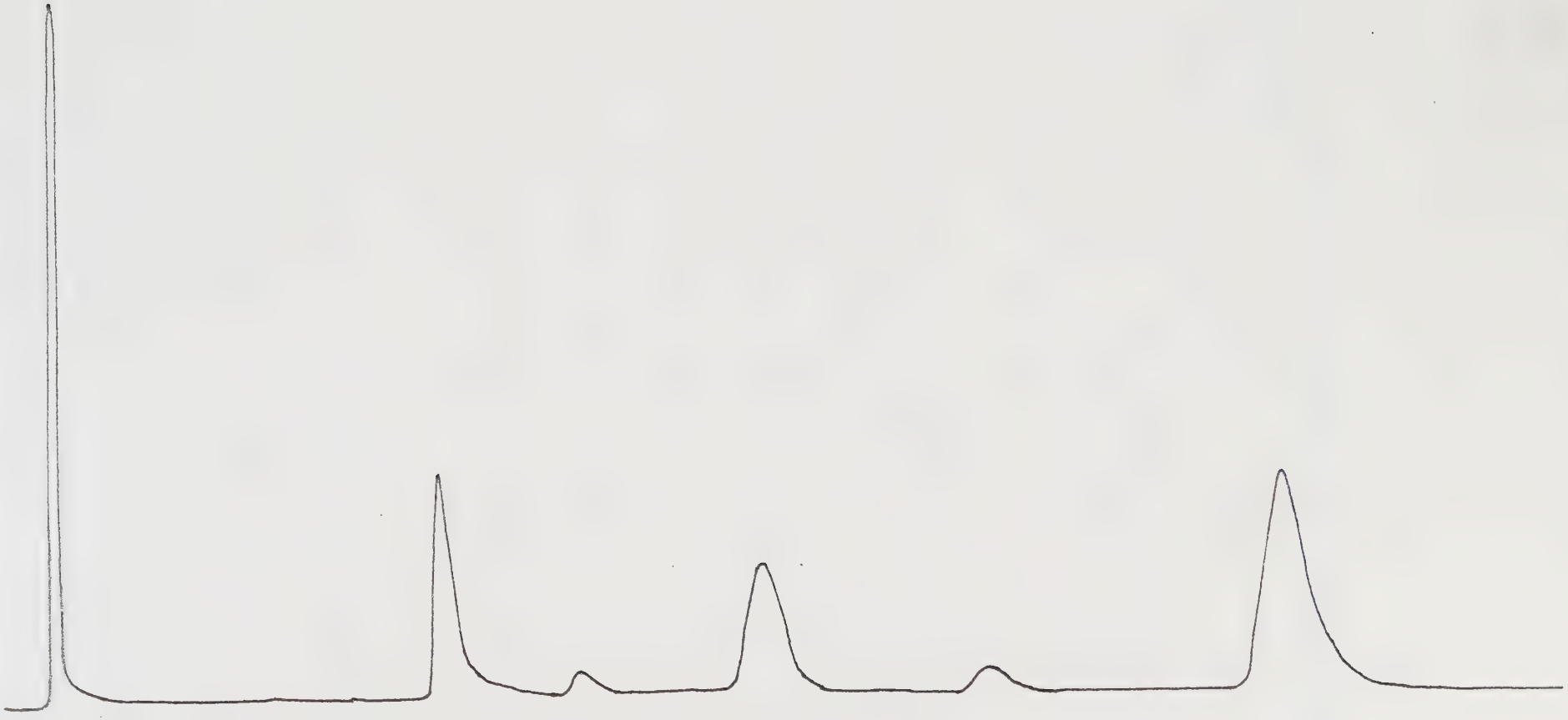
Les produits ainsi obtenus sont mis en solution dans le chloroforme et déposés sur les plaques de silice imprégnée denitrate d'argent. Le développement se fait soit par le solvant Ia = Benzène - éther éthylique (2 : 3 v/v), soit le solvant IIb = Benzène - éther éthylique - chloroforme (25 : 25 : 1 v/v). On révèle par l'acide sulfurique concentré dilué au demi.

Les alcools triterpéniques provenant des Capparidaceae étudiées et acétylés nous ont donné les résultats du tableau XV.

Chromatographie sur couche mince de silice
imprégnée de nitrate d'argent des alcools triterpéniques acetylés

	Solvants	
	Ia	IIb
α amyrine acétylé	0,72	0,96
β amyrine acétylé	0,68	0,91
Lupéol acétylé	0,29	0,58
Taraxastérol acétylé	0,59	0,84
Buchholzia coriacea Engl.	0,30	0,58
Euadenia trifoliolata Oliv.	0,28-0,72-0,67	0,57-0,96-0,90
Euadenia eminens Hook.		
Capparis biloba Hutch. et Dalz.	0,29	0,58
Ritchiea capparoïdes Britten.	0,28-0,58	0,57-0,83
Maerua angolensis DC.	0,29	0,58

Tableau XV



ALCOOLS ALIPHATIQUES BOSCIA Madagascarensis

T = 250°C – N_2 1,52 – Echelle 1/2

2) Etude des différents alcools triterpéniques isolés des capparidaceae

a. Buchholzia coriacea Engl.-

L'insaponifiable nous donne après purification sur colonne de silice un produit qui cristallise en fines aiguilles. Il est soluble dans l'éther éthylique, l'acétone, l'alcool éthylique et insoluble dans l'eau.

La réaction de LIEBERMANN fournit une coloration rouge violacé, puis verte après 20 à 30 minutes.

F = 215 - 218°C (Bloc Koffer)

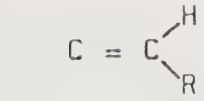
212°C (appareil microscopique de Reichert)

α_D = + 28° $\pm$ 1° (solution à 1 % $CHCl_3$)

Spectre UV = aucune extinction

IR :

- 1642 cm^{-1} = oscillation de valence de la double liaison C = C
- 3070 cm^{-1} = oscillation de valence de -C -H rattaché à l'un des carbones portant la double liaison



- 883 = vibration de déformation du même groupe.

Spectre de masse : $M^+ = \frac{m}{e} = 426$

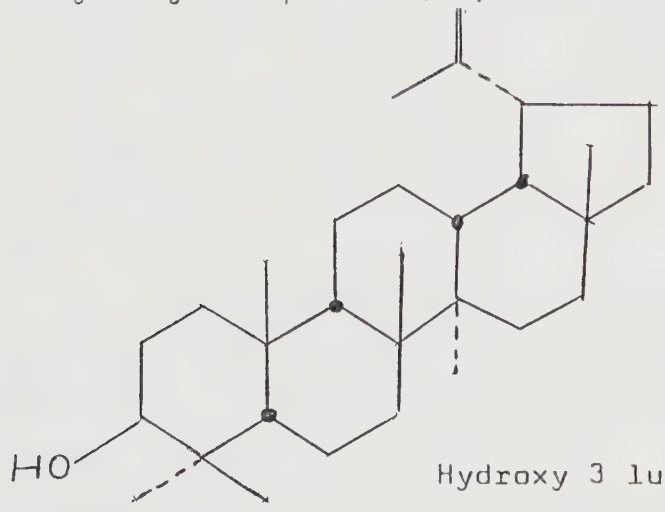
Analyse

Trouvé C = 84,6 ; H = 11,7

Calculé pour $C_{30}H_{50}O$

C = 84,25 ; H = 11,8

L'ensemble de ces données permet d'identifier cet alcool triperpénique de Buchholzia coriacea Engl. au Lupéol ou hydroxy 3 lupa -20 (30) ène.



Hydroxy 3 lupa - 20 (30) ène

b. Euadenia trifoliolata Oliv.

La fraction correspondant aux alcools triterpéniques donne trois taches par chromatographie sur couche mince de silice G imprégnée de nitrate d'argent

1. Séparation des différents alcools triterpéniques

L'extrait total d'alcools triterpéniques est acétylé selon la technique précédemment décrite. 35 mg de produit acétylé dissous dans l'éther de pétrole est filtrée à travers une colonne d'alumine neutre (5 X 40).

On obtient un produit (a = 17 mg) en éluant la colonne avec un mélange éther de pétrole-benzène (19 : 1 v/v ; 1,5 l) et le produit (b = 9 mg) avec le mélange éther de pétrole-benzène (6 : 1, v/v ; 2,5 l).

2. Etude de fraction (a)

La chromatographie en couche mince de silice imprégnée de nitrate d'argent nous donne, après révélation, deux taches de Rf respectifs suivants :

- Solvant Ia 0,72 et 0,68
- Solvant IIb 0,96 et 0,91

La cristallisation fractionnée de cette fraction dans du benzène contenant 1 % d'acétone conduit à deux produits I et II. L'étude chromatographique donne les résultats suivants :

	Solvant Ia	Solvant IIb
Produit I	0,73	0,96
Produit II	0,68	0,91

. Produit I

Soluble dans éther éthylique , chloroforme

F = 223 (microscope de Reichert)

α_D = + 83° ($CHCl_3$ C = 1)

Masse $M^+ = \frac{m}{e} = 462$

Autres pics importants

$\frac{m}{e}$ = 218 (dû au Mac Lafferty)

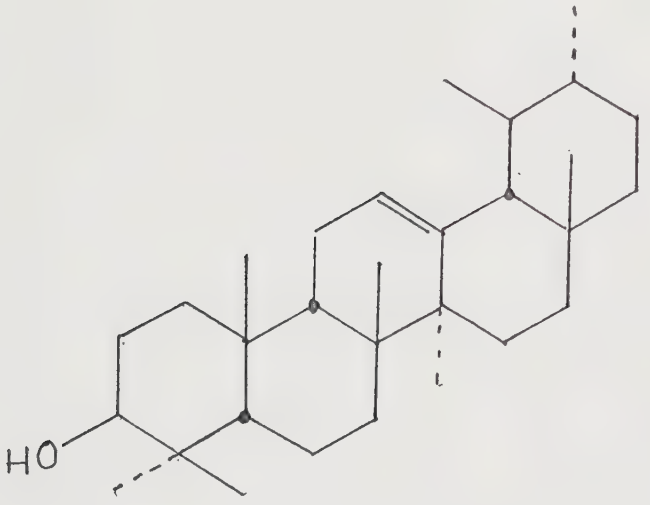
$\frac{m}{e}$ = 203, 262

IR : on observe les bandes à cm^{-1} 1658, 3030, 805, 820, 830, 1434

RMN nous permet de déceler le proton vinylique à 4,5ppm.

- 1,01 ppm (6 H) ___ CH_3 (23 et 26)
- 0,8 ppm (6 H) ___ CH_3 (24 et 28)
- 0,9 ppm (3 H) ___ CH_3 (25)
- 1,08 ppm (3 H) ___ CH_3 (27)

Ces données nous permettent de confirmer que le produit I est l'acétate de α amyrine ou acétate de hydroxy 3β ursa 12 ène.



α amyrine

. Produit II

Produit soluble dans le chloroforme, l'acétone.

F = 239° ; α_D = 78° ($CHCl_3$ C = 1)

- Analyse

Trouvé C = 81,8 ; H = 11,2

Calculé pour $C_{32}H_{52}O_2$

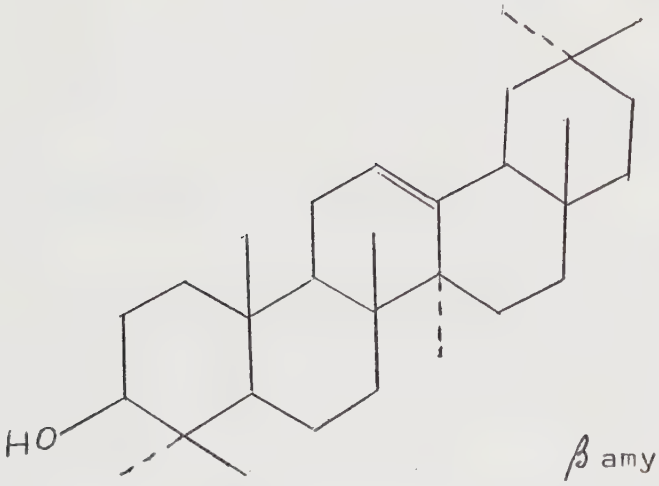
C = 82,0 ; H = 11,2

IR : bandes à cm^{-1} : 1652, 3028, 804, 820, 830, 1435

RMN : on a les signaux suivants :

- 0,8 ppm 12 H _____ CH_3 (23, 24 29 et 30)
- 0,9 ppm 6 p _____ CH_3 (25 et 26)
- 1,1 ppm 3 p _____ CH_3 (27)
- 0,79 ppm 3 p _____ CH_3 (28)

Ces données sont conformes à l'acétate de β amyrine ou acétate de hydroxy 3β oleana 12 ène.



β amyrine

3. Fraction b

Elle est étudiée comparativement à l'acétate de lupéol.

Fusion : 219° C. (Microscope de Reichert)

α_D = + 61° (Chloroforme C = 1)

IR : bande 882 cm $^{-1}$ très intense, caractéristique de la série des lupanes.

Autres absorption : 1639, 3030.

Cette fraction b est identifiée à l'acétate de Lupéol

c. Ritchiea capparoïdes Britt.

La séparation des deux produits est réalisée comme dans le cas de Euadenia trifoliolata Oliv.

Nous avons obtenu

- 1 fraction a
- 1 fraction b qui est l'acétate de lupéol.

Etude de la fraction a

Soluble dans les solvants organiques.

F = 239° C (microscope de Reichert)

α_D = + 101 ($CHCl_3$ C = 1)

Masse = M^+ $\frac{m}{e}$ = 468

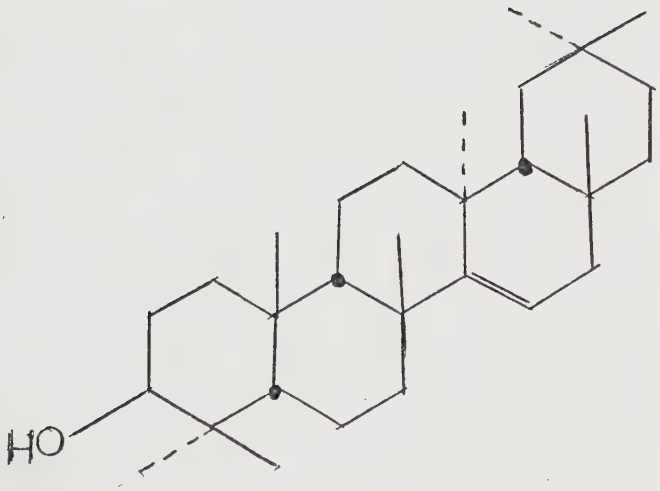
189, 218, 203, 205

conforme à la fragmentation du Taraxastérol (BUDZIKIEWICZ, WILSON et DJERASSI, 1963).

RMN montre

- 4,65 ppm (2 H = protons vinyliques exocycliques
  2,04 ppm (3 H singulet)

Fraction (a) est l'acétate de taraxastérol ou acétate de hydroxy 3 β ursa 20(30) ène.



Taraxastérol

Hydroxy 3β (18 , 19 H) ursa 20(30)ène

Répartition d'alcools triterpéniques chez six espèces de Capparidaceae

Genres et espèces	Lupéol	Taraxastérol	α amyrine	β amyrine
Buchholzia coriacea Engl.	+			
Euadenia trifoliolata Oliv.	+		+	+
Euadenia eminens Hook.	+		+	+
Ritchiea capparoïdes Britt.	+	+		
Capparis biloba Hutch. et Dalz.	+		+	
Maerua angolensis DC.	+			

Remarque : Nous avons travaillé sur les écorces de tronc.

Tableau XVI

C.) STEROLS

Les stérols d'origine végétale sont appelés phytostérols par opposition aux zoostérols dont le cholestérol est le représentant le plus connu. Mais celui-ci a été retrouvé chez certains végétaux inférieurs (TSUDA, AKAGI et KISHIMA, 1958). Plus tard, on a montré son existence dans des végétaux supérieurs (JOHNSON, BENNETH et HEFTMANN, 1963) et dans des pollens (DEVYSM., M. BARBIER, 1965).

Les travaux récents de biosynthèse font dériver les stérols du cycloarténol.

1) Caractérisation

- Réaction de Liebermann-Burchard.

Les stérols en solution chloroformique sont traités par un mélange d'anhydride acétique (5 ml) et d'acide sulfurique concentré (V gttes). Il se forme une coloration violette, puis bleue et enfin verte dont la vitesse d'évolution est en rapport avec la structure de la molécule et particulièrement la position des doubles liaisons.

Les Δ_5 -sténols présentent une coloration d'intensité maximale au bout de 20 à 30 mn. ("long acting reaction").

Les Δ_7 sténols donnent une teinte bleu virant au vert au bout de 2 mn (fast acting reaction).

Les sténols ne régissent pratiquement pas.

2) Identification

a. Obtention.-

Les stérols sont obtenus par chromatographie préparative sur couche mince ou chromatographie sur colonne de silice.

b. Etude.-

. Chromatographie sur couche mince

On utilise de la silice imprégnée de nitrate d'argent.

Les stérols seront acétylés comme dans le cas des alcools aliphatiques.

Le produit acétylé en solution dans le chloroforme est déposé sur plaque imprégnée de nitrate d'argent. La migration se fait dans le chloroforme comme solvant.

. Chromatographie en phase gazeuse

Les premiers travaux d'analyse des stérols par cette méthode sont décrits par BERTTUIS et RECOURT, 1960. Depuis de nombreux auteurs comme VAN DE NHEUVEL et HORING, 1965, précisent les conditions opératoires. La bonne séparation de ces composés est en rapport avec plusieurs facteurs :

- la confection de la colonne,
- le réglage des températures de l'appareil,
- la forme sous laquelle l'échantillon a été injecté

1. Colonne

Nous avons utilisé

SE - 30 à 10 %, SE - 30 à 2 %

Les conditions de fonctionnement de l'appareil à chromatographie en phase gazeuse sont identiques à celle du chapitre n-alcanes.

2. Substances essayées

- stérols eux-mêmes en solution chloroformique
- stérols préalablement transformés en dérivés trimethylsililés selon la technique suivante :

A 1 mg de stérol, on ajoute successivement, 50 µl de pyridine, 10 l d'hexamethyldisilazane et 4 µl de trimethyl chlorosilane. On laisse réagir environ 10 minutes à l'abri de l'air. Il se forme un dépôt et l'on injecte environ 1 µl de la phase surnageante.

La silylation est théoriquement complète en quelques minutes; cependant, comme le préconise d'ALGLEISH, HORNING, KNOSE et YARGER (1966), il est prudent d'abandonner le mélange réactionnel pendant 12 h. à la température du laboratoire.

Résultats

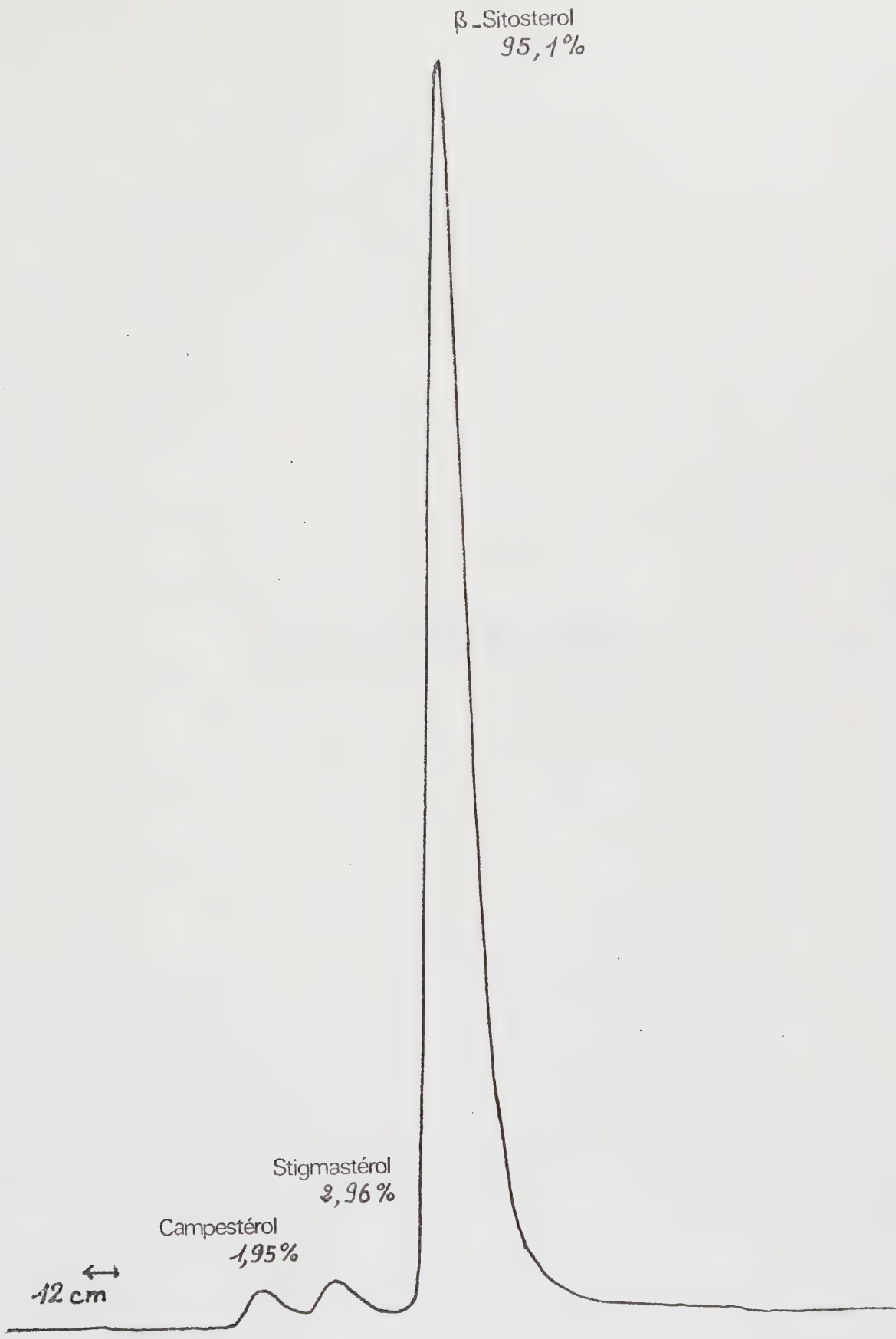
Nous avons retrouvé avec des pourcentages différents, les trois sortes de stérols les plus répandus dans le règne végétal ; mais dans Euadenia trifoliolata Oliv., nous avons en plus le cholestérol.

Répartition des stérols chez sept espèces de Capparidaceae

Genres et espèces	Cholestérol	Campestérol	Stymastérol	β sitostérol
Buchholzia coriacea Engl.		5,5	33,8	60,7
Euadenia trifoliolata Oliv.	3,3	11,1	9,5	76
Cadaba farinosa Forsk.		8,8	5,1	86
Boscia madagascariensis Hadj. Moust.		1,95	2,96	95,1
Capparis biloba Hutch. et Dalz.		8,8	15,7	75,3
Ritchiea capparoïdes Britten.		6,8	10,6	82,5
Maerua angolensis DC.		3,85	40,6	55,6

Les teneurs sont rapportées à 100.

Tableau XVII



BOSCIA Madagascarensis : STEROLS

Figure 3

ETUDE DES POLYPHENOLS

Une étude systématique des divers polyphénols présenterait peut-être un intérêt particulier pour l'essai de taxinomie moléculaire entrepris dans ce travail. Mais il faudrait s'adresser surtout aux feuilles qui sont habituellement les organes les plus riches en flavonoïdes et en acides phénols. Les difficultés que nous rencontrons pour réunir le matériel nécessaire à une vaste étude portant sur le plus grand nombre d'espèces de Capparidaceae ne nous a pas permis, dans le domaine des polyphénols, de réaliser le développement souhaité.

Des essais préliminaires par chromatographie sur couche mince selon les procédés habituels au Laboratoire de Matière médicale, nous ont montré la présence d'acides phénols, de flavonoïdes et de proanthocyanes dans cette famille des Capparidaceae.

ACIDES PHENOLS

Les acides phénols apparaissent maintenant comme des constituants banaux des Végétaux. Dérivés du phényl propane, ils sont probablement une étape dans l'anabolisme et le catabolisme des polyphénols rattachés aux squelettes phényl-chromone et phényl-chromane.

Le tableau n°XIX rassemble les formules et les synonymies des principaux acides phénols et de leurs dérivés appartenant à l'acide benzoïque et à l'acide cinnamique.

Notre étude a porté sur 7 espèces correspondant chacune à un genre.

Les acides phénols existent à l'état libre et sous forme d'esters combinés à d'autres polyphénols ou à des sucres.

I - EXTRACTION ET PURIFICATION

Un échantillon de 100 g de feuilles sèches est introduit dans un ballon de 2 l surmonté d'un réfrigérant à reflux : on extrait par de l'alcool à 95° (1 l) à la température du bain-marie bouillant pendant 30 mn. L'extrait alcoolique est séparé par filtration à chaud sur papier avec expression ; une seconde extraction est opérée de la même manière. Les deux extraits sont réunis et le solvant est chassé sous pression réduite à une température n'excédant pas 40°, jusqu'à résidu sec. Celui-ci est repris par de l'eau bouillante (50 ml, deux fois de suite). Après refroidissement, on filtre pour éliminer divers constituants insolubles (lipides et pigments en suspension). Le filtrat est ensuite alcalinisé avec précaution jusqu'à pH 9-10 par addition de solution d'hydroxyde de sodium 1 N. Cette réalisation provoque en 24 h. à la température du laboratoire une hydrolyse des formes combinées des acides-phénols. Il reste alors à extraire et purifier ces derniers, libérés sous forme de sels de sodium.

Par addition d'acide chlorhydrique dilué au 1/10, on réacidifie jusqu'à pH 4 ; l'extrait aqueux est agité avec de l'éther éthylique (25 ml à deux reprises). Cet extrait, lavé avec de l'eau distillée (25 ml deux fois), est traité par une solution aqueuse de carbonate acide de sodium ; dans la phase éthérée restent des polyphénols non

acides tandis que la phase aqueuse entraîne les acides-phénols sous forme de sels de sodium.

Par acidification à pH 4 au moyen d'acide chlorhydrique dilué au 1/10 et épuisement au moyen de 50 ml d'éther, on obtient finalement une solution purifiée d'acides phénols. Celle-ci est desséchée sur sulfate de sodium ; le solvant est éliminé par distillation. Le résidu sec est repris par de l'alcool éthylique (1 ml deux fois de suite).

II - IDENTIFICATION

On utilise les méthodes habituelles de chromatographie sur papier et sur plaque (BATE-SMITH, 1954 ; WILLIAMS, 1955 ; IBRAHIM et TOWERS, 1960 ; RIBEREAU-GAYON, 1964), et la spectrophotométrie en UV.

a. Chromatographie

- Papier Whatman n° 1
- Solvants : (I) n butanol - acide acétique - eau (4 : 1 : 5, v/v)
  (II) Acide acétique -eau (2 : 8, v/v)

L'absorption du chromatogramme en UV à 365 nm avant et après exposition aux vapeurs d'ammoniac permet d'observer la fluorescence spécifique des dérivés de l'acide cinnamique et des dérivés O-hydroxylés de l'acide benzoïque.

La révélation par la p. nitraniline diazotée fournit des

indications supplémentaires par des colorations assez spécifiques. On pulvérise d'abord avec le réactif préparé extemporanément par mélange des solutions

1/ p. nitraniline 0,5 g
Acide chlorhydrique 2 N 100 ml, et

2/ Nitrite de sodium 15 g
Eau distillée 100 ml

dans les proportions respectives de 8 et 2 ml.

On note la couleur des taches révélées.

Puis, après séchage du chromatogramme, on pulvérise une solution aqueuse de carbonate de sodium à 15 %. Les colorations sont alors caractéristiques.

b. Le spectre d'absorption des acides-phénols

Le spectre d'absorption en U.V. présente habituellement, pour les dérivés cinnamiques, un pic entre 225 et 235 nm et deux autres entre 290 et 300 nm. Cette double absorption serait due à la coexistence de deux isomères cis et trans (GEISSMAN et HARBORNE, 1955 ; HARBORNE, 1964).

Par alcalinisation, s'observe un effet bathochrome. Afin d'établir le spectre des acides, il est nécessaire de les isoler préalablement à l'état pur en les séparant les uns des autres : la chromatographie préparative sur plaque de cellulose permet d'obtenir ce résultat. On

opère dans les conditions suivantes :

- plaque de cellulose 20 X 20, couche mince de 0,25 mm d'épaisseur,
- solvant acide acétique - eau (2 : 98, v/v).

Observation des bandes en U.V. ; grattage des bandes et élution au moyen d'alcool à 95°.

Les éluats sont concentrés à sec et repris par 1 ml d'alcool éthylique avec lequel on établit les spectres.

Acides phénols identifiés dans Boscia senegalensis Lam.

Acides Phénols	Rf dans l'acide acétique 2 %	Fluorescence en UV	Couleur des taches	
			p-nitraniline	p-nitraniline + Na_2CO_3
Série benzoïque				
Ac. syringique	0,44		Jaune orangé	Bleu
Ac. vanillique	0,59	Violet pâle	Jaune	Violet
Série cinnamique				
Ac. férulique	0,25	Violet	Brun rose	Brun bleu
Ac. p-coumarique	0,39	Bleu-violet	Jaune brun	Bleu

Tableau XVIII

Le tableau XVIII réunit les caractéristiques des acides-phénols identifiés dans Boscia senegalensis Lam.

X
X X

Ce protocole expérimental appliqué aux échantillons des 7 espèces étudiées a fourni les résultats suivants :

Buchholzia coriacea Engl.

. Série benzoïque

Acides protocatéchique, syringique et vanillique.

. Série cinnamique

Acide férulique

Cadaba farinosa Forsk.

. Série benzoïque

Acides syringique, vanillique.

. Série cinnamique

Acide ferulique.

Capparis biloba Hutch. et Dalz.

. Série benzoïque

Acides syringique et vanillique

. Série cinnamique

Acides férulique, p-coumarique

Euadenia trifoliolata Oliv.

. Série benzoïque

Acides para hydroxy benzoïque, syringique et vanillique

. Série cinnamique

Acide ferulique

Maerua angolensis DC.

. Série benzoïque

Acide syringique

. Série cinnamique

Acides ferulique et para coumarique

Ritchiea capparoïdes Britten.

. Série benzoïque

Acides para hydroxy benzoïque et vanillique

. Série cinnamique

Acide férulique

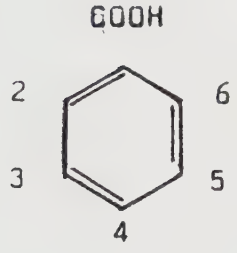
X
X X

Les mêmes acides très courants se rencontrent dans les espèces étudiées. Nous n'avons pas mis en évidence l'acide sinapique que l'on trouve dans presque tous les Crucifereae.

Tableau XIX

ACIDES PHENOLS ISOLES DANS LES VEGETAUX

I - DERIVES DE L'ACIDE BENZOÏQUE



1) Acides monohydroxy benzoïques

- Ac. O. hydroxy benzoïque : ac. salicylique
- Ac. p. hydroxy benzoïque : ac. catalpique

Dérivés

- Ac. p. méthoxy benzoïque : ac. anisique

2) Acides dihydroxy benzoïques

- ac. dihydroxy-3-4 benzoïque : ac. protocatéchique
- ac. dihydroxy-2-3 benzoïque : ac. pyrocatéchique
- ac. dihydroxy-3-6 benzoïque : ac. gentisique

Dérivés

- Ac. hydroxy-4 méthoxy-3 benzoïque : ac. vanillique
- Ac. diméthoxy-3-4 benzoïque : ac. vératrique
- ac. dihydroxy-3-5 méthyl-2 benzoïque : ac. orsellique

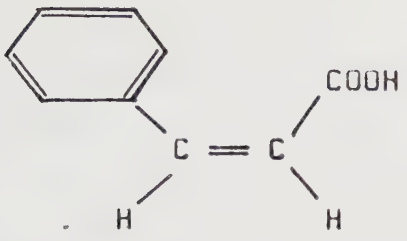
3) Acides trihydroxy benzoïques

- ac. trihydroxy 3-4-5 benzoïque : ac. gallique

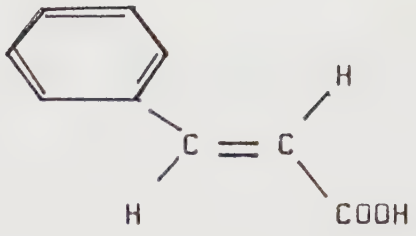
Dérivés

- ac. hydroxy-4 dimethoxy-3-5 benzoïque : ac. syringique
- ac. triméthoxy-3-4-5 benzoïque : ac. eudesmique

II - DERIVES DE L'ACIDE CINNAMIQUE



Forme Cis



Forme Trans

- ac. monohydroxy-4 cinnamique : ac. p. coumarique
- ac. dihydroxy-3-4 cinnamique : ac. cafeique
- ac. hydroxy-4 méthoxy-3 cinnamique : ac. férulique
- ac. hydroxy-4 diméthoxy-3-5 cinnamique : ac. sinapique

FLAVONOIDES

Notre étude a porté sur les feuilles de 7 espèces parmi les plantes qui nous ont donné une réaction positive à la cyanidine lors des essais préliminaires : coloration rose à rouge indiquant la présence de flavonoïdes du groupe des flavonols.

Le but poursuivi dans ce travail étant de rechercher une unité taxinomique, faute de temps et de matières premières nous n'avons pas étudié les hétérosides flavoniques mais seulement les génines selon le procédé de BATE-SMITH ; toutefois, il a été possible d'isoler du rutoside chez Boscia senegalensis Lam. et chez Maerua angolensis DC.

I - LES GENINES FLAVONIQUES DANS BOSCIA SENEGALENSIS LAM.

A.) EXTRACTION

Un échantillon d'environ 100 g de feuilles sèches est introduit dans un ballon de 1 l contenant 500 ml d'alcool éthylique bouillant. Après trente minutes d'ébullition, l'extrait alcoolique est séparé. On recommence la même opération sur l'organe partiellement épuisé. Les deux extraits filtrés sont réunis (E).

B.) CONCENTRATION ET PURIFICATION

L'extrait (E) est concentré dans un évaporateur rotatif à une température n'excédant pas 40° C. jusqu'à un volume résiduel de 50 ml.

Cet extrait concentré est ensuite versé dans une ampoule à décanter de 250 ml, dilué au demi par addition d'eau distillée. Pour éliminer les pigments liposolubles, en particulier la chlorophille, on applique le procédé utilisé par DELAVEAU (1967) : on ajoute 10 ml de chloroforme et on agite vigoureusement. Deux couches se séparent en quelques heures ; l'inférieure, colorée en vert, est rejetée, la supérieure contient les flavonoïdes purifiés.

C.) HYDROLYSE DES FLAVONOIDES

L'extrait purifié est concentré sous vide à une température n'excédant pas 40° jusqu'à un volume résiduel

de 50 ml. On ajoute 7,5 ml d'acide sulfurique 1 N. On porte le ballon au bain-marie à douce ébullition pendant 2 heures. Après refroidissement, on épuise l'hydrolysat par trois fois 100 ml d'éther éthylique qui extrait les génines flavoniques. On lave l'extrait éthéré par 3 fois 25 ml d'eau distillée pour éliminer les traces d'acides, puis il est desséché sur le sulfate de sodium anhydre. On évapore à sec l'éther éthylique et le résidu de génines est repris par 5 ml d'alcool éthylique.

D.) ETUDE DES GENINES FLAVONIQUES

1) Chromatographie sur papier Whatman n° 1

Elle est pratiquée avec trois solvants :

a) Solvant de PARTRIDGE
b) Solvant de FORESTAL
c) Acide acétique - eau (6 : 4, v/v)

2) Chromatographie sur couche mince de cellulose

On utilise des couches minces de 0,25 mm d'épaisseur et le solvant de migration (c) précédent.

3) Révélation

a) En lumière visible, on observe des taches de couleur jaune pâle.

b) En lumière ultra violette, le jaune devient brillant. L'intensité de ce jaune change très peu après exposition de la plaque aux vapeurs d'ammoniac.

c) Après pulvérisation de la plaque avec une solution à 2 % de chlorure d'aluminium dans le méthanol et observation aux UV., les taches deviennent jaune vert fluorescent.

d) La pulvérisation de la plaque par la solution d'acétate basique de plomb et son observation aux UV. le quercétol est coloré en jaune, le kaempférol en jaune vert, le rhamnétol en orangé et l'isorhamnétol en jaune.

Chromatographie sur papier WHATMAN N° 1

des génines flavoniques

	Solvants		
	(a)	(b)	(c)
Quercétol	0,69	0,40	0,31
Rhamnétol	0,80	0,60	0,48
Isorhamnétol	0,78	0,58	0,45
Boscia senegalensis Lam.	0,69 0,80 0,78	0,41 0,61 0,58	0,31 0,48 0,46

Tableau XX

Chromatographie sur couche mince de cellulose : Rf des génines flavoniques dans le solvant Acide acétique - eau (6 : 4, v/v)

	Quercétol	Rhamnétol	Iso-rhamnétol	Boscia senegalensis Lam.
Rf	0,40	0,52	0,51	0,42 ; 0,52 0,51

Tableau XXI

3) Spectre d'absorption en UV

L'extrait alcoolique des génines est soumis à une chromatographie préparative sur plaque de cellulose (0,25 mm d'épaisseur) avec le solvant acide acétique - eau (6 : 4, v/v). Les différentes bandes correspondant aux flavonoïdes sont grattées et éluées par le méthanol. Chaque solution de génine est évaporée à sec sous pression réduite et le résidu repris par de l'éthanol. On obtient trois génines, B_1, B_2 et B_3 qui sont soumises à l'analyse spectrale. Les résultats figurant dans le tableau n° XXII . En se fondant sur les différents Rf et les spectres UV, on peut assimiler successivement les flavonols B_1, B_2 et B_3, respectivement au quercétol (tétrahydroxy 5, 7, 3', 4' flavonol), rhamnétol (trihydroxy 5, 3', 4' méthoxy 7 flavonol), isorhamnétol (trihydroxy 5, 7, 4' méthoxy 3' flavonol).

Cette technique a été appliquée à l'étude des flavonoïdes de toutes les autres espèces.

Pics d'absorption en UV des génines flavoniques

	Alcool à 95	Chlorure d' aluminium	Acétate de sodium	Acétate de sodium + ac. borique
Quercétol	370 257	428(361)(300)267	382 268	391 261
Rhamnétol	371 256	423(300)(350)268	398 255	376 275
Isorhamnétol	370 258	428(359)(260)249;	261(300)395	255 379
B_1	370 258	428(361)(300)267	382 268	390 261
B_2	371 256	423(300)(350)268	399 255	376 275
B_3	370 258	428(359)(260)249	262(300)396	255 379

Tableau XXII

Différents flavonols identifiés dans
7 espèces de Capparidaceae

	Quercétol	Iso-rhamnétol	Rhamnétol
Boscia senegalensis Lam.	+	+	+
Cadaba farinosa Forsk.	+		
Capparis biloba Hutch. et Dalz.	+		
Capparis tomentosa Lam.	+		
Maerua angolensis DC.	+	+	
Ritchiea Capparoïdes Britt.	+		
Ritchiea reflexa Gilg. et Bened.	+		

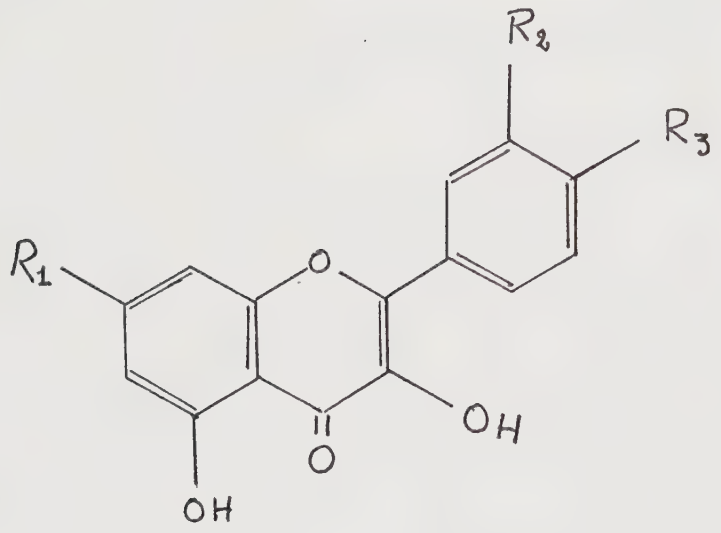
Tableau XXIII

Dans le cas des 7 espèces examinées, n'ont été caractérisés que des flavonols (Tableau n° XXIII et Figure n° 4).

Nous n'avons pas rencontré le kaempférol mais toujours du quercétol, dans deux espèces l'isorhamnétol et dans une seule le rhamnétol.

Ces flavonols ont été déjà signalés dans des familles qui appartenaient à l'ordre des Rhoeadales et contenant des hétérosides soufrés : Crucifereae (AZIZ UR RAHMAN et SAMI KHAN M, 1962 ; MASQUELIER et al., 1961) Resedaceae (PARIS et GUYONNET, 1972).

Flavonols identifiés dans
les quelques espèces de Capparidaceae



1) Quercétol

$R_1 = R_2 = R_3 = OH$

2) Rhamnétol

$R_2 = R_3 = OH$

$R_1 = OCH_3$

3) Isorhamnétol

$R_1 = R_3 = OH$

$R_2 = OCH_3$

Figure n° 4

QUERCETOL

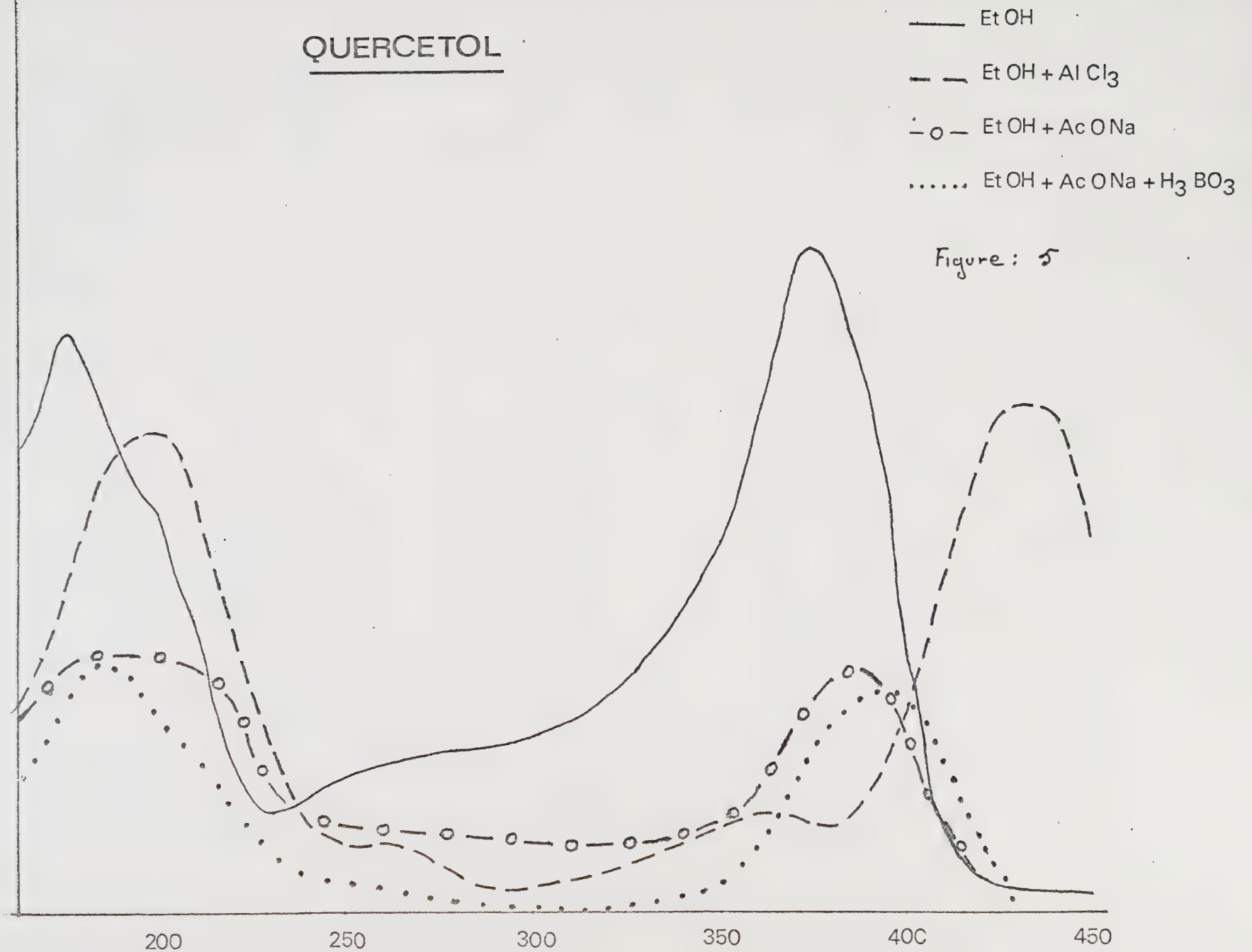


Figure : 5

II - ETUDE D'UN HETEROSIDE FLAVONIQUE DES FEUILLES DE BOSCIA SENEGALENSIS Lam.

A.) EXTRACTION

Un échantillon de 200 g de feuilles pulvérisées est extrait 3 fois successivement par 200 ml d'alcool à 95°. On réunit les liqueurs extractives et on les concentre sous pression réduite à 100 ml. Dans l'extrait résiduel porté au réfrigérateur pendant 24 h se dépose un précipité jaune qui est séparé par centrifugation.

B.) ETUDE DU PRECIPITE JAUNE

Après recristallisation dans l'alcool à 50°, le précipité jaune est soumis à une chromatographie ascencante sur papier Whatman n° 1 avec les solvants suivants :
(I) solvant de PARTRIDGE ; (II) eau ; (III) Acide acétique - eau (15 : 85, v/v) ; (IV) Acide acétique - eau (6 : 4, v/v)..

Dans les quatre cas, on observe une seule tache avec les Rf respectifs 0,40 ; 0,27 ; 0,52 ; 0,72 qui correspondent à ceux du Rutoside dans les mêmes conditions.

Spectre d'absorption en UV

	Bande I	Bande II
Alcool	362 nm	258 nm
Alcool + $AlCl_3$	403 et 360 nm	271 nm
Alcool + Acét. Na	397 nm	267 nm
Alcool + Acét. Na + Ac. borique	384 nm	264 nm

RUTOSIDE

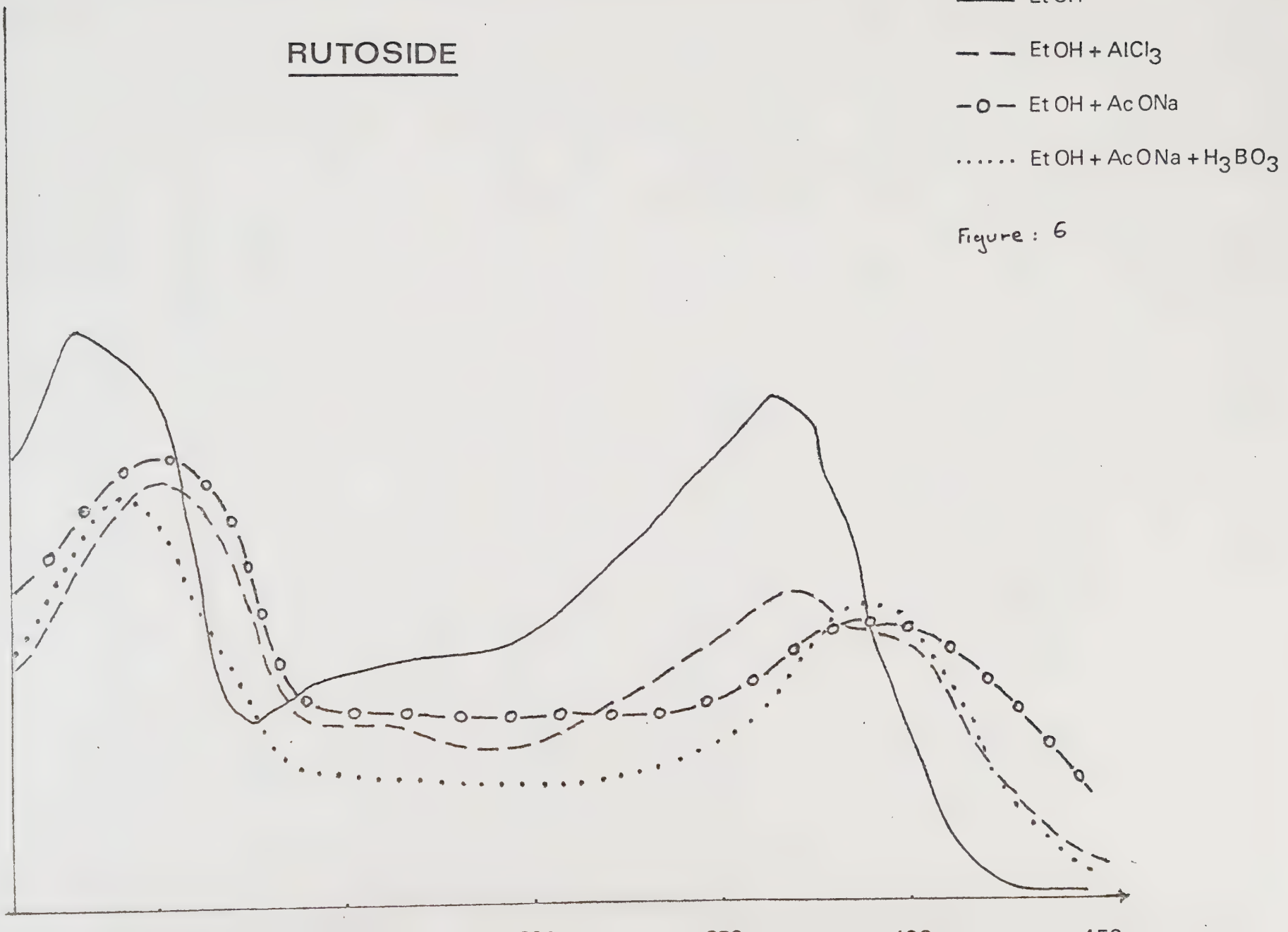


Figure : 6

C.) HYDROLYSE DU FLAVONOSIDE

Elle est réalisée avec de l'acide sulfurique 1 N pendant deux heures au bain-marie bouillant. Cette hydrolyse libère une génine qui est extraite par l'éther éthylique. Le solvant, après lavage, est déshydraté sur sulfate de sodium anhydre, puis chassé par distillation et le résidu est repris par du méthanol.

1) Etude de la génine

- Chromatographie sur papier Whatmann n° 1.-

Dans les solvants (a), (b) et (c), la génine fournit des Rf identiques à celui d'un étalon de quercétol (tableau n° XXII.

- Chromatographie sur plaque de cellulose.-

Solvant acide acétique - eau. On observe après révélation une tache de Rf 0,41 identique à celui du quercétol témoin.

Spectre d'absorption en UV

	Bande I	Bande II
Alcool 95	370	257
+ $AlCl_3$	430	268
+ acétate de Na	382	268
+ acétate de Na + ac. borique	382	261

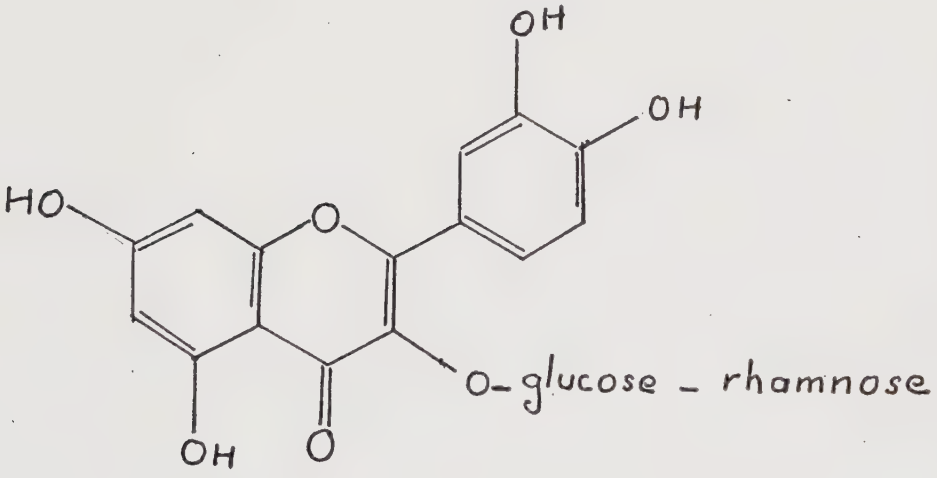
L'absorption est identique à celle du quercétol.

2) Etude de l'ose

L'hydrolysat privé de la génine est neutralisé par du carbonate de baryum. Après filtration et concentration, on réalise une chromatographie descendante sur papier avec 3 solvants :

(Ia) Isopentanol - pyridine - eau (7 : 7 : 2, v/v)
(IIb) n-butanol - pyridine - eau (6 : 4 : 3, v/v)
(IIIc) Acétate d'éthyle - pyridine - eau (12 : 5 : 4, v/v)

Ces caractéristiques du flavonoside extrait de Boscia senegalensis Lam. permettent d'identifier le rutoside ou quercétol-3 rhamnoglucoside



Cette même technique nous a permis d'isoler du rutoside dans les feuilles de Maerua angolensis DC.

Chromatographie sur papier Whatman 3MM
des sucres du flavonoside

	Ia	IIb	IIIc
Oses	0,49 ; 0,64	0,36 ; 0,58	0,60 ; 0,76
Glucose	0,48	0,36	0,61
Rhamnose	0,64	0,57	0,75

Tableau XXIV

PROANTHOCYANES

Des recherches initiales portant sur le Buchholzia coriacea Engl. avaient montré la présence de proanthocyanes dans les divers organes examinés (écorces de tronc et de racine, feuilles, fruits). En raison de l'intérêt que présentent ces substances, tant du point de vue de la physiologie végétale que de la chimiotaxinomie, il est intéressant de rechercher dans toutes les autres espèces selon le procédé simple qui consiste à avoir une coloration rouge brun par action de l'acide sulfurique - eau (8 : 2, v/v).

Nous n'avons trouvé des proanthocyanes en quantité appréciable que dans Buchholzia coriacea Engl.

ISOLEMENT DES PROANTHOCYANES DE L'ECORCE DE TRONC DE BUCHHOLZIA CORIACEA Engl.

I - EXTRACTION

L'extraction, portant sur 200 g d'écorce, se fait dans un appareil de Soxhlet par la méthode dite de solvants successifs de polarité croissante : éther de pétrole, éther éthylique, chloroforme, acétate d'éthyle, acétone et alcool méthylique. Les liqueurs extractives sont filtrées et concentrées sous pression réduite. Une petite quantité de l'extrait obtenu est étudiée en chromatographie sur papier selon le protocole suivant :

On évapore à sec 10 ml d'extrait dans une petite capsule au bain-marie. Le résidu est repris par 1 ml d'alcool éthylique à 40° ; 10 µl sont déposés sur la ligne de départ du chromatogramme que l'on développe avec le solvant dit de Partridge, n-butanol - acide acétique - eau (4 : 1 : 5, v/v). La pulvérisation de l'acide toluène sulfonique à 15 % suivie d'un chauffage à 100° pendant 10 mn fait apparaître des taches de coloration jaune ou rouge.

On constage que ces substances commencent à être déplacées par l'acétone et sont complètement extraites par l'alcool méthylique.

Les extraits acétonique et méthanolique sont concentrés chacun à 100 ml. L'addition d'éther de pétrole

fait apparaître un précipité légèrement teinté en brun, recueilli par centrifugation et séché sous vide phosphorique. Le rendement est de 0,82 %.

II - TRANSFORMATION DES PROANTHOCYANES EN ANTHOCYANES

C'est la méthode de BATE-SMITH (1954) qui a été utilisée. Elle consiste à traiter par l'acide chlorhydrique 2 N au bain-marie bouillant pendant 15 à 30 mn. Les proanthocyanes incolores se transforment en anthocyanes colorés, solubles dans l'isopentanol.

III - ETUDE CHROMATOGRAPHIQUE

A.) CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE DE CELLULOSE

Elle est réalisée selon la technique de NYBON (1964).

C'est une chromatographie bidimensionnelle en utilisant les solvants I acide formique - acide chlorhydrique - eau (10 : 1 : 3, v/v) et II isopentanol - acide acétique - eau (2 : 1 : 1, v/v).

B.) REVELATION

1) Observation à la lumière visible

On observe sur la plaque trois pigments A, B et C colorés respectivement en rouge, pourpre et jaune.

2) Examen en lumière ultra-violette

Seul le chromaphore A présente une fluorescence rouge.

C.) CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER WHATMAN N° 1

Pour ce faire on a utilisé deux solvants : solvant de PARTRIDGE = (I) n butanol - acide acétique - eau (4 : 1 : 5, v/v), et le solvant de FORESTAL = (II) acide acétique - eau - acide chlorhydrique concentré (30 : 10 : 3, v/v).

On observe trois taches, A, B et C de Rf respectifs dans les solvants I et II. A (0,49 et 0,67) ; B (0,31 et 0,42) ; C (0,75 et 0,73).

IV - SEPARATION DES ANTHOCYANES

Elle est réalisée par chromatographie préparative sur plaques de cellulose de 0,25 mm d'épaisseur avec le solvant I de NYBON. Après développement et séchage à l'aide d'un séchoir à ventilation, les bandes correspondant aux différents anthocyanes sont prélevées séparément et éluées par le méthanol. Chaque solution est évaporée à sec et le chromophore est repris par de l'éthanol.

V - IDENTIFICATION DES ANTHOCYANES

Elle se fait en se fondant d'une part sur leur

coloration et d'autre part sur leur spectroscopie dans le visible et dans l'ultra-violet.

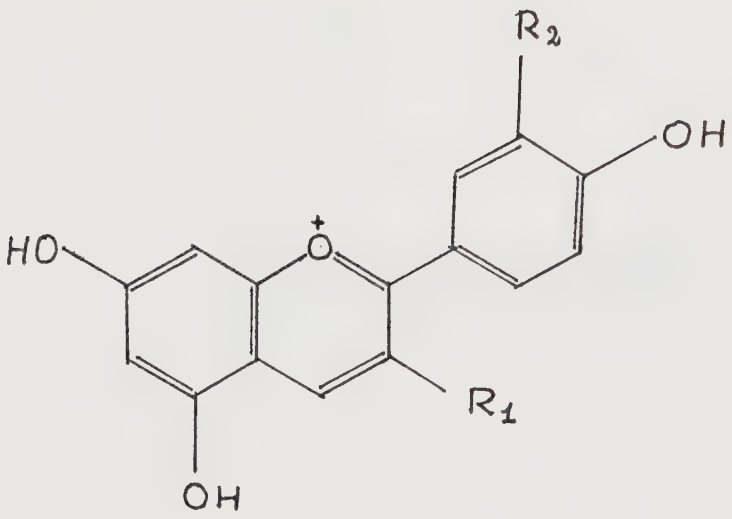
Les résultats groupés dans le tableau n° XXV. permettent d'identifier les trois anthocyanidines, respectivement à la cyanidine ou pentahydroxy-3, 5, 7, 3', 4' flavylium (A), la pélargonidine ou tétrahydroxy-3, 5, 7, 4' flavylium (B) et l'apigénidine ou trihydroxy-5, 7, 4' flavylium (C).

Coloration et maximum d'absorption
des anthocyanes de
Buchholzia Coriacea Engl.

Pigments	Coloration	Maximum d'absorption nm	
		Visible	UV
A	Rouge	556	276
B	Rouge-violet	547	270
C	Jaune	482	260

Tableau XXV

Anthocyanes identifiés chez
Buchholzia coriacea Engl.



1) $R_1 = R_2 = OH$ = Cyanidine

2) $R_1 = OH$; $R_2 = H$ = Pélargonidine

3) $R_1 = R_2 = H$ = Apigénidine

Figure 7

ETUDE DES ALCALOÏDES

INTRODUCTION

Nous avons étudié l'extraction des alcaloïdes des feuilles, des écorces de tiges, de racines et de tronc de diverses Capparidaceae. Nous avons pu ainsi obtenir des alcaloïdes dérivés de la proline : L-stachydrine et hydroxy-3 L-stachydrine, des amines et d'autres alcaloïdes. Ce dernier groupe, de structure non définie, ne figurera pas dans ce travail parce que ces alcaloïdes n'existent que dans un très petit nombre d'espèces, leur présence n'apporte aucune précision à la définition de la famille des Capparidaceae, mais à la classification interne de la famille.

Au cours de la présente étude, nous avons systématiquement procédé à la détection des alcaloïdes par électrophorèse des extraits alcooliques. La révélation est faite par le réactif de Dragendorff. Ensuite, l'isolement des alcaloïdes a été réalisé au moyen de deux types de procédés : avec les échantillons de poids supérieur à 1 kg, il a été possible de mener à bien l'extraction et l'isolement par les méthodes habituelles ; mais, celles-ci étant inapplicables à des échantillons de masse plus faible, il a fallu recourir à des procédés de chromatographie et d'électrophorèse préparative.

EXTRACTION ET PURIFICATION DES ALCALOIDES

I - EXTRACTION ET SEPARATION DES ALCALOIDES PAR DES METHODES HABITUELLES.

A.) EXTRACTION

1 kg environ d'échantillon de matériel végétal (feuilles, écorces de tige, de tronc ou de racines) est privé de produits lipo solubles à chaud par l'éther de pétrole (8 l) dans un appareil de Soxhlet. Le matériel est ensuite extrait par percolation au moyen du mélange éthanol-eau (7 ⁄ 3, v/v) à raison de 20 l, jusqu'à ce que le percolat obtenu ne fournisse plus de réaction positive avec le réactif de Mayer (mercuri iodure de potassium). Concentré sous vide au 1/10 de son volume, le percolat est acidifié à pH 3 par addition d'acide acétique et lavé à l'éther de pétrole (500 ml, 3 fois).

1) Obtention des bases tertiaires

La solution privée de lipides par agitation avec de l'éther de pétrole, est alcalinisée à pH 9 par addition de bicarbonate de sodium et épuisée par le chloroforme en quantité suffisante jusqu'à ce que la fraction chloroformique ne contienne plus que des traces d'alcaloïdes. Cette phase de solvant organique est desséchée au moyen du sulfate de sodium et évaporée à sec. Le résidu contient les bases tertiaires.

2) Obtention des bases quaternaires

La solution alcaline, privée des bases tertiaires, est réacidifiée par addition d'acide chlorhydrique normal jusqu'à pH 3 et traitée par le réactif de Mayer concentré ($HgCl_2$: 50 ; KI : 200 g : H_2O : 400 ml) jusqu'à précipitation totale des alcaloïdes. Le précipité recueilli sur verre fritté, dûment lavé par l'eau chaude pour éliminer l'excès du réactif de Mayer, est étudié suivant deux méthodes.

a. Première méthode.-

Le précipité de mercuriodure d'alcaloïdes est mis en suspension dans l'eau chaude et décomposé par un courant d'hydrogène sulfuré. La solution est filtrée sur verre fritté et le sulfure de mercure formé est soigneusement lavé par l'eau chaude jusqu'à ce que l'eau de lavage ne fournisse plus de réaction avec le réactif de Mayer. La solution aqueuse d'iodure d'alcaloïdes concentré à 100 ml sous vide à une température n'excédant pas 40° C, est passée sur résine échangeuse d'ions IRA : 410 sous forme Cl^-. La solution aqueuse des chlorures d'alcaloïdes obtenus est concentrée sous vide à sec.

b. Deuxième méthode.-

Le précipité de mercuriodure dissous dans le mélange acétone-méthanol-eau (6 : 2 : 7, v/v) est passé sur une colonne de résine IRA : 410 sous forme Cl^- montée dans le même mélange. L'élution est faite avec le solvant de dissolution du mercuriodure d'alcaloïde, jusqu'à ce que l'eau de lavage donne un test négatif au réactif de Mayer. L'éluat après évaporation donne un résidu de chlorures d'alcaloïdes.

Cette seconde technique est plus longue et, de plus, on n'est pas sûr d'avoir une décomposition complète du précipité de mercuriodure d'alcaloïdes.

B.) SEPARATION DES BASES QUATERNAIRES

Elle est faite par chromatographie sur colonne d'alumine.

Dans le cas de Cadaba farinosa Forsk. qui contient plusieurs bases quaternaires, nous avons procédé de la façon suivante :

12, 36 g de bases quaternaires obtenus à partir de 8 kg de poudre de tiges dissous dans le méthanol ont été mélangés avec 5 g d'alumine. Ce mélange, soigneusement séché pour éliminer toute trace de méthanol, est déposé au-dessus d'une colonne d'alumine désactivée avec 10 % d'eau. L'isolement des alcaloïdes est effectué selon le tableau XXVI.

Chromatographie des bases quaternaires de

Cadaba farinosa Forsk.

Eluant	Fractions	Poids en mg	
Chloroforme	1-10	52	Traces de bases tertiaires
Chloroforme-éthanol 99-1	11-15	30	résidu huileux
" " 98-2	16-20	900	cristallise dans le chloroforme
" " 97-3	21-30	520	cristallise dans le mélange méthanol-chloroforme
" " 96-4	31-35	40	résidu huileux ne cristallisant pas
" " 95-5	36-40	35	résidu visqueux limpide - odeur caractéristique
" " 94-6	41-52	252	cristallise dans le méthanol F = 230° C.
" " 93-7	53-55	10	résidu huileux
" " 93-7	56-60	20	résidu visqueux donnant la réaction des amines
" " 92-8	61-75	126	cristallise dans le méthanol F = 250° C.
" " 90-10	75-80	75	résidu non cristallisable.

Tableau XXVI

Les alcaloïdes des fractions (16-20) et (21-30) de structure non encore définie sont en cours d'étude.

II - SEPARATION DES ALCALOIDES PAR DES MICRO METHODES

Elle est obtenue par les systèmes de chromatographie et d'électrophorèse préparative sur des extraits alcooliques de poudre de plante. Dans ce cas, nous nous sommes intéressé uniquement à la L-stachydrine et l'hydroxy-3 L-stachydrine dont les positions ont été repérées grâce à des produits de synthèse.

A.) ISOLEMENT DES ALCALOIDES PAR CHROMATOGRAPHIE PREPARATIVE

- Plaques : alumine Merck 20 X 20 ; 0,25 mm d'épaisseur
- Solvant : Ethanol-chloroforme-eau (50 : 35 : 15 v/v)
- Durée de migration : 15 h.

Les bandes d'alumine correspondant à la L-stachydrine et à l'hydroxy-3 L-stachydrine sont grattées et éluées au méthanol.

B.) ISOLEMENT DES ALCALOIDES PAR ELECTROPHORESE PREPARATIVE

1) <u>Sur papier</u>

Appareil : Elphor
Tension : 110 v.
Papier : Arches 302
Tampon : Acide formique-eau (5 : 95, v/v)
Durée : 1 h.

Le papier est imbibé de tampon et, après l'avoir essoré, on le dispose sur l'appareil. On dépose ensuite sur toute sa longueur l'extrait alcoolique. Après migration, on retire avec précaution la feuille et on élimine avec un séchoir à ventilation les traces d'acide formique. On révèle par le réactif de Dragendorff une mince bande et on découpe les bandes correspondant à la L-stachydrine et à l'hydroxy-3 L-stachydrine.

Pour l'étude de chaque plante, il a fallu préparer quinze à vingt bandes

2) Sur plaques de cellulose

Appareil : Desaga
Tension : 220 v.
Intensité: 25 mA.
Plaque : Merck 20 X 20 ; 0,25 mm d'épaisseur
Tampon : borate de sodium-eau (5 : 1000, v/v).

Avant de déposer l'extrait alcoolique de plante, la plaque de cellulose est préalablement lavée par le tampon.

La révélation et l'élution des plaques sont réalisées comme indiqué ci-dessus.

ETUDE CHIMIQUE

I - ISOLEMENT DE LA L-STACHYDRINE

Dans le cas de Cadaba farinosa Forsk. les fractions 41-52 fournissent un produit huileux. 30 mg de ce résidu en solution méthanolique sont passés sur une colonne de résine IRA : 410 sous forme Cl^-. On obtient le chlorhydrate de stachydrine qui cristallise dans le méthanol.

F = 223° (appareil microscopique de Reichert).

- Analyse

Trouvé C = 46,8 ; H = 7,7 ; N = 7,9

Calculé pour $C_7H_{14}O_2NCl$

C = 46,8 ; H = 7,8 ; N = 7,8

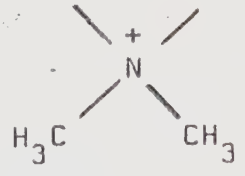
α_D = 28,1° (eau C = 1)

Spectres IR

bandes à 8 cm^{-1} 1700 : (C = O)

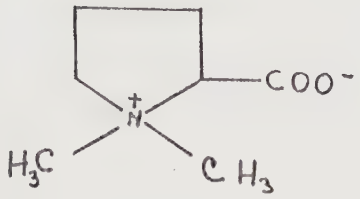
Spectre RMN

3,1 et 3,2 ppM = (6p)



Ces caractéristiques physico-chimiques sont

identiques à celles de la L-stachydrine de synthèse.



II - ISOLEMENT DE L'HYDROXY 3 L-STACHYDRINE

Des fractions 46-50 de la colonne d'alumine, on obtient, après cristallisation dans le méthanol, 92 mg de l'hydroxy 3 L-stachydrine.

Fusion : 250° C.

α_D : + 12° (eau C = 1)

- Analyse

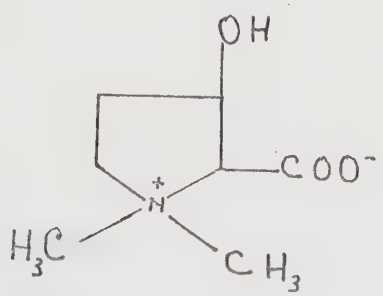
Trouvé C = 52,8 ; H = 8,2 ; N = 9,0

Calculé pour $C_7H_{13}O_3N$

C = 52,8 ; H = 8,2 ; N = 8,8

IR = 1700 = (C = O)

RMN = 5,2 ppm (1 p.) de l'hydroxyle, seule différence avec la stachydrine.



Picrate = fines aiguilles jaunes

fusion 160° C

III - ISOLEMENT DE L'HYDROXY DE TETRAMETHYL AMMONIUM

Les fractions 36-40 donnent un résidu huileux limpide possèdant une odeur caractéristique. Ce corps donne une coloration violacée avec le réactif de Dragendorff.

Le produit dissous dans le méthanol est purifié sur une petite colonne d'alumine.

Son spectre RMN montre une absorption vers 3,5 ppm de 12 protons qui sont les 4 CH_3^- sur l'azote de la tétramine.

IV - ISOLEMENT DE LA CHOLINE

La choline est issue des fractions 56-60. Ses caractéristiques ont été reconnues par rapport à un étalon en chromatographie sur plaque avec le solvant chloroforme - Ethanol - eau (35 : 50 : 15, v/v) et en électrophorèse sur plaque ou sur papier dans les conditions décrites dans le chapitre "micro méthodes".

V - SYNTHESE de la L-STACHYDRINE

2 g de L-proline sont mélangés avec 4 g d'oxyde d'argent fraîchement préparé en suspension dans 5 ml d'eau, le tout est soumis à une agitation magnétique durant 3 heures à la température du laboratoire. On évapore sous pression réduite la moitié de l'eau. On ajoute ensuite 40 ml de méthanol et 2 ml d'iodure de méthyle. Le mélange est laissé à la température ambiante durant toute la nuit. Chauffé au

bain-marie bouillant sous réfrigérant à reflux pendant trois heures, filtré, il est évaporé à sec sous pression réduite. Le résidu trituré avec le mélange acétone-méthanol (1 : 1) laisse cristalliser 1,26 g de L-stachydrine (Rdt = 51 %).

VI - SYNTHESE DE L'HYDROXY-3 L-STACHYDRINE

Elle est faite à partir de 2 g d'Hydroxy-3 L-proline en suivant les mêmes étapes que dans la synthèse de la L-stachydrine. On a obtenu 0,92 g d'hydroxy-3 L-stachydrine cristallisée (Rdt = 46 %).

Tableau XXVII

Répartition de la Stachydrine et Hydroxy 3 L-Stachydrine dans les Capparidaceae

Genres et espèces	Organes	Stach.	OHsta.	Tétr.
Boscia madagascariensis Moust.	F.	+	+	+
" senegalensis Lam.	F.	+	+	
" "	E_R.	+	+	+
Buchholzie coriacea Engl.	F.	0	0	0
" "	E_R.	0	0	0
" "	E_T.	0	0	0
Cadaba farinosa Forsk.	F.	+	+	+
" "	T_1.	+	+	+
Capparis assamica Hook.	F.	+		+
" biloba Hutch. et Dalz.	F.	+	+	+
" "	T_1.	+	+	+
" corymbosa Lam.	F.	+		
" "	E_T	+		
" erythrocarpos Isert.	F.	+	+	+
" "	T	+	+	+
" "	E_R.	+	+	+
" flavicans Wall.	F.	+	+	
" micracantha DC.	F.	+		
" pentaphylla				
" pyrifolia Lam.	F.	+	+	
" sepiaria Wall.	F.		+	
" tomentosa Lam.	F.	+		
" "	E_T.	+		
" tweediana Eichl.	F.		+	
" urophylla F. Chun.	F.		+	
" Zeylanica Linn.	F.	+		

Cladostemon paradoxus Br. et Valke	F.	+					
Crateva Adansonii DC.	F.	+					
" erythrocarpa Gagnep.	F.	+					
" graveana Baill.	F.	+					
" nurvala Buch. Ham.	F.	+					
Euadenia eminens Hook.	F.	0		0		0	
" "	$E_{R.}$	0		0		0	
" "	$T_{1.}$	0		0		0	
Euadenia trifoliolata Oliv.	F.	0		0		0	
" "	$E_{T.}$	0		0		0	
" "	$E_{R.}$	0		0		0	
Maerua angolensis DC.	F.	+		+			
" "	$E_{R.}$	+		+			
" ovalifolia Cambess.	F.	+		+			
" "	E_{R}	+		+			
Morisonia americana Linn.	F.			+		+	
Neothorelia Laotica Gagnep.	F.			+			
Poilanedora unijuga Gagnep.	F.			+			
Ritchiea capparoïdes Britten.	F.	+					
" "	T.	+					
" "	$E_{R.}$	+					
" reflexa Gilg et Bened.	F.	+					
" "	T.	+					
" "	$E_{R.}$	+					
Steriphoma paradoxum Endl.	F.	+		+		+	
Stixis obtusifolia Baill.	F.	+					
" scandans Lour.	F.	+					
" suaveolens Roxb.	F.	+					

Thylachium africanum Lour.	F.	+	+		
Tirania purpurea Pierre	F.	+	+		

Légende

F = Feuille
T_1 = Tige
E_T = Ecorce de tronc
E_R = Ecorce de Racine

Stach. = L- Stachydrine
OHsta = Hydroxy-3 L- Stachydrine
Tetra = Hydroxy de tétra-méthyl ammonium

ETUDE DES HETEROSIDES SOUFRES

Dans une première partie sont exposées les différentes techniques proposées pour l'extraction, la purification et l'identification des hétérosides soufrés.

Dans la seconde partie sont indiquées les méthodes que nous avons personnellement utilisées.

Enfin, dans une dernière partie, sont étudiés les différents hétérosides soufrés obtenus à l'état cristallisé.

Premier Chapitre

METHODES GENERALES D'ETUDE DES HETEROSIDES SOUFRES

I - EXTRACTION ET PURIFICATION

La méthode générale d'extraction porte sur des organes, plus spécialement des graines, préalablement délipidés par l'éther de pétrole ; le solvant utilisé alors est soit l'eau chaude, soit l'alcool à 80°.

Autrefois, l'extrait ainsi obtenu était purifié par l'acétate de plomb ; actuellement, il s'avère plus avantageux d'utiliser le procédé aux résines échangeuses d'ions de SCHULTZ et GMELIN, 1953, procédé qui a été appliqué successivement à l'obtention de la glucotropaeoline (SCHULTZ et GMELIN, 1954), du méthyl-3 butényl-3 glucosinolate (KJÆR et WAGNIERES, 1965) et de la glucocapparine (BROWN et STUART, 1968).

On peut aussi employer des colonnes de cellulose (SCHULTZ et GMELIN, 1952 ; WAGNER, HORHAMMER et NUFFR, 1965) ou d'alumine (SCHULTZ et WAGNER, 1955 ; KJÆR et GMELIN, 1956 ; KJÆR, THOMSEN et HANSEN, 1960).

La chromatographie préparative sur papier WHATMAN n° 3MM a été parfois utilisée (KJÆR et THOMSEN, 1962, 1968 ; AHMED, RIZK, HAMMOUDA et EL-NASR, 1972).

Enfin, DANIELAK et BORKOWSKI, 1969, extraient les hétérosides soufrés des graines par le méthanol à chaud et les purifient en les précipitant ensuite par le chloroforme.

En fait, les techniques employées pour l'extraction et la purification des hétérosides soufrés dépendent chaque fois de l'organe que l'on traite et surtout des produits secondaires qui les accompagnent.

II - IDENTIFICATION

Dans un extrait hydro alcoolique de plantes, on identifie les hétérosides soufrés par plusieurs systèmes de chromatographie. A cet effet, on utilise très souvent la chromatographie sur papier, plus rarement la chromatographie sur plaque ; quant à l'électrophorèse, elle est d'un emploi limité.

A.) CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

Ce sont SCHULTZ et GMELIN (1952, 1953, 1956) qui ont mis au point la chromatographie descendante sur papier d'un extrait total de plantes. Ils ont utilisé différents supports dont les papiers WHATMAN n° 1, Schleicher et Schüll 2043 b ; le papier Whatman 3MM est employé dans le cas des chromatographies préparatives.

Les solvants de développement sont, pour la plupart, à base de n-butanol-éthanol-eau ou n-butanol-acide acétique-eau (SCHULTZ et GMELIN, 1953, 1954, 1956 ; KJAER et GMELIN, 1956 ; KJAER, GMELIN et JENSEN, 1955, 1956 (a), 1956 (b) ; KJAER , 1968 ; SCHRAUDOLF, 1968 ; GMELIN et SCHLUTTER, 1970).

La révélation s'opère par pulvérisation de nitrate d'argent ammoniacal (SCHULTZ et GMELIN, 1952 ; KJAER , 1968),

mais ce réactif est loin d'être spécifique. D'autres auteurs ont cherché à agir sur le groupement thiol ou thiocyanate par un réactif au nitroprussiate (SCHULZ, 1950), un autre à l'azide de sodium et un réactif au sulfate de cuivre (FEIGL, 1960 ; HAIS et MACEK, 1963).

B.) CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Cette technique a été que rarement appliquée à l'identification des hétérosides soufrés (SCHULTZ et GMELIN, 1952 ; WAGNER, HÜRHAMMER et NUFFR, 1965 ; BENKERT, 1966 ; GMELIN et BRENDENBERG, 1966). Successivement KINDL en 1964 utilise des plaques de silice G pour la séparation de la sinalbine après développement par le solvant eau-méthanol-acétate d'éthyle (75 : 5 : 5, v/v). La révélation est opérée par le réactif de ZAFFORONI (1950) à base d'iodure de potassium. De son côté, WAGNER et alii. (1965), utilisent des plaques de silice G et le mélange n butanol- n propanol-acide acétique-eau (3 : 1 : 1 : 1; v/v). Les hétérosides sont révélés par pulvérisation d'une solution chloroformique à 25 % d'acide trichloracétique et chauffage à 140° C pendant 20 minutes. Après refroidissement, les plaques sont pulvérisées avec le réactif suivant : solution aqueuse à 5 % de chlorure ferrique - solution à 1 % de ferro-cyanure (1 : 1, v/v). Les deux solutions étant mélangées extemporanément à parties égales, les hétérosides soufrés apparaissent sous forme de taches bleu intense.

De son côté, KJAER en 1968 utilise des plaques de cellulose avec le solvant n-butanol-pyridine-eau (6 : 4 : 3, v/v) pour caractériser la glucoputranjivine dans Tovaria pendula RUIZ. et PAVON. Le solvant acétate d'éthyle-isopropanol-

ammoniaque (45 : 35 : 20, v/v) a été employé pour développer des plaques de silice MN et HR (SCHRAUDOLF, 1969). DANIELAK et BORKOWSKI, 1969, font l'investigation de 151 espèces de Cruciferae sur couche mince de silice G avec le solvant n-butanol-n-propranol-acide acétique-eau (3 : 1 : 1 : 1, v/v).

C.) ELECTROPHORESE

Cette méthode d'étude des hétérosides soufrés n'est utilisée à notre connaissance que par SCHRAUDOLF, 1969, avec un tampon phosphate.

D.) CARACTERISATION DES ISOTHIOCYANATES LIBERES PAR HYDROLYSE DES HETEROSIDES SOUFRES

L'hydrolyse enzymatique des hétérosides soufrés libère deux sortes d'isothiocyanates. Ceux qui sont volatils sont séparés par entraînement par la vapeur d'eau. Ils sont étudiés soit par chromatographie gazeuse (KJÆR et JART, 1957), soit par chromatographie dans différents solvants après leur transformation en thiourée (KJÆR et RUBINSTEIN, 1953 ; DELAVEAU, 1953 ; HORAK, 1954 ; VIETTI-MICHELLINA, 1959).

Les isothiocyanates non volatils extraits par les solvants organiques sont analysés par les méthodes physico-chimiques.

Deuxième Chapitre

METHODES UTILISEES DANS CE TRAVAIL

I - ETUDE PREALABLE EN CHROMATOGRAPHIE

A.) PREPARATION DE LA LIQUEUR EXTRACTIVE

Un échantillon de 1 g environ d'organe de plante pulvérisé (écorces de tronc, écorces de racines, tiges, feuilles ou graines) placé dans une fiole conique de 250 ml est délipidé à froid par 25 ml d'éther de pétrole en utilisant un agitateur magnétique durant une heure. Après centrifugation, la poudre délipidée est mise à sécher à l'air libre. On réalise ensuite une extraction au bain-marie bouillant par 10 ml du mélange méthanol-eau (7 : 3, v/v) pendant trente minutes. On filtre après refroidissement. Sur l'extrait obtenu, renfermant les hétérosides soufrés, seront effectuées les études chromatographiques.

B.) CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

C'est le papier Whatman n° 3MM qui nous a donné la meilleure séparation avec le solvant A (Tableau n°XXVIII et Figure n° 8).

Conditions opératoires

Cuve Shandon 50 X 50 X 40, dans laquelle le papier est laissé 24 heures pour assurer la saturation avec les vapeurs de la phase inférieure du solvant.

Papier Whatman n° 3MM 45 X 35.

Méthode : chromatographie descendante.

Durée de migration : 18 heures trois fois avec séchage entre chaque migration.

Révélation : nous avons procédé comme suit avec le nitrate d'argent.

Le chromatogramme bien séché est immergé dans une solution acétono-aqueuse de nitrate d'argent (0,75 g de $AgNO_3$ dissous dans 10 ml d'eau et dilué par 400 ml d'acétone). Le papier est ensuite mis à sécher à l'air libre à l'abri d'une forte lumière. Ensuite, on pulvérise les deux faces par une solution alcaline (méthanol-lessive de soude ; 95 : 5, v/v). Les hétérosides soufrés apparaissent sous forme de taches brunes après 2 à 5 mn. Le chromatogramme est ensuite lavé par une solution aqueuse très diluée d'acide nitrique à 1 p. 1000. Le papier est séché à l'étuve à 100° C. La couleur des taches passe au gris noir.

Cette technique nous a permis de voir la migration de chacun des étalons d'hétérosides soufrés disponibles et de calculer, non le Rf mais le Rs par rapport à la migration d'un étalon de sinigrine provenant de la collection du Laboratoire de Phytopharmacologie.

CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER DE DIVERS
HETEROSIDES SOUFRES

Nom de l'hétéroside soufré	Désignation du solvant				
	A	B	C	D	E
Glucocapparine	0,57	0,67	0,77	0,76	0,85
Glucocleomine	1,15	1,24	1,37	1,26	1,35
Glucoiberine	0,47	0,60	0,62	0,69	0,57
Sinigrine	1	1	1	1	1
Glucobrassicine	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Gluconorbrassicine	2,05	-	-	-	-
Glucotropaeoline	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Glucocapanguline	1,7	1,74	1,73	1,77	2,41
Sinalbine	1,05	0,91	1	1,11	1,26

Valeurs de Rs de différents hétérosides soufrés (H.S.)

$$Rs = \frac{\text{déplacement H.S.}}{\text{déplacement sinigrine}}$$

Tableau XXVIII

SOLVANTS DE CHROMATOGRAPHIE UTILISES
POUR LA SEPARATION DES HETEROSIDES SOUFRES

A	BuOH	-	EtOH	- H_2O	4-1-4
B	BuOH	-	HOAc	- H_2O	4-1-5
C	BuOH	-	HOAc	- H_2O	4-1-3
D	BuOH	-	HOAc	- H_2O	4-1-2
E	BuOH	-	pyridine	- H_2O	6-4-3

BuOH = n butanol

EtOH = Ethanol

HOAc = Acide acétique

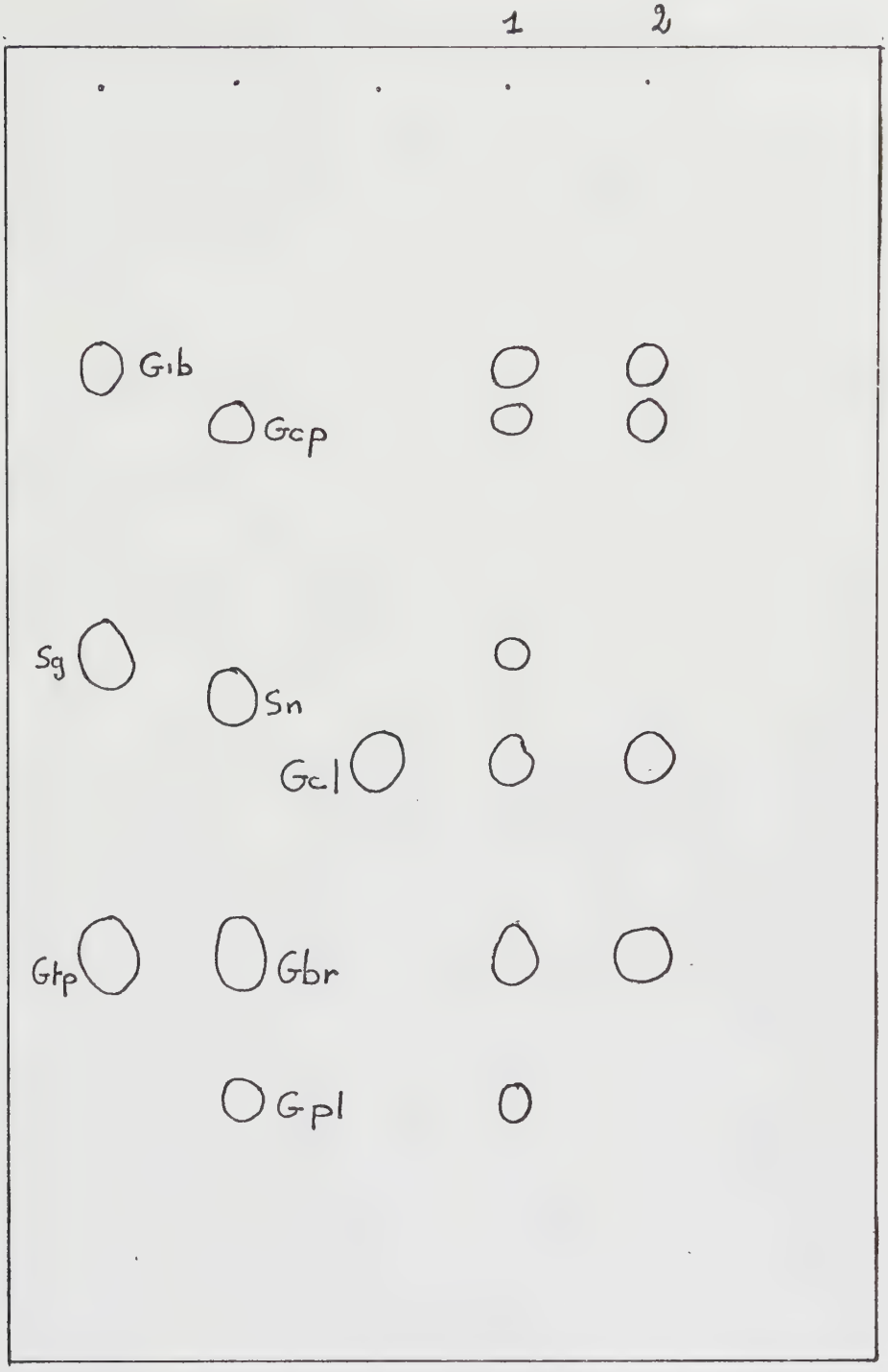
Prpportions en volumes

Tableau XXIX

Chromatographie descendante des

hétérosides soufrés

solvant : n-butanol - éthanol - eau (4 : 1 : 4)



Gcp = glucocapparine
Gib = glucoibérine
Gcl = glucocléomine
Gbr = glucobrassicine
Gpl = glucocapanguline
Gtp = glucotropaeoline
Sg = sinigrine
Sn = sinalbine

1 = Capparis biloba

2 = Buchholzia coriacea

Figure 8

C.) CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

On utilise des plaques de silice G Merck avec le solvant : n-butanol - n-propanol - acide acétique - eau (3 : 1 : 1 : 1, v/v). La révélation est faite selon WAGNER et alii (1965).

II - ISOLEMENT ET PURIFICATION DES HETEROSIDES SOUFRES

A.) PREPARATION DE LA LIQUEUR EXTRACTIVE

L'isolement des hétérosides a été étudié chaque fois que nous avons été en possession d'au moins 250 g de graines ou 500 g de tout autre organe.

L'organe étudié, préalablement pulvérisé et délipidé à l'éther de pétrole, est épuisé trois fois au bain-marie bouillant par le mélange méthanol-eau (7 : 3, v/v) sous réfrigérant à reflux. Pour un Kg de drogue pulvérisée, la première extraction est faite avec 1,5 l du mélange hydro-alcoolique et les deux autres avec 1 l chaque fois. L'extrait refroidi est filtré, puis concentré sous pression réduite de façon à éliminer tout le méthanol. Cette façon d'opérer permet de dénaturer les protéines, en particulier la myrosinase qui pourrait provoquer l'hydrolyse instantanée des hétérosides soufrés en milieu aqueux. L'extrait aqueux résiduel contenant, outre les hétérosides soufrés, toutes les substances hydrosolubles, est filtré sur celite.

B.) PURIFICATION

1) Défécation par l'acétate neutre de plomb.-

On utilise une solution concentré d'acétate neutre de plomb jusqu'à cessation de précipitation. Après centrifugation, on élimine l'excès de sel de plomb par une solution à 10 p. 100 de phosphate disodique. L'extrait se clarifie après une nouvelle centrifugation. L'addition du phosphate tamponne le pH et l'établit à 6,5.

2) Résines échangeuses d'ions.-

L'extrait aqueux est passé sur une colonne de résine DOWEX 1 X 1 qui retient les hétérosides soufrés. Si, d'après la chromatographie sur papier, la drogue renferme plus de quatre composés soufrés, il faut utiliser 300 g de DOWEX par Kg de plante. Cette résine est lavée par environ 200 ml d'eau, les hétérosides soufrés sont élués par une solution aqueuse à 5 p. 100 de sulfate neutre de potassium jusqu'à ce que l'éluat ne renferme plus d'hétérosides, ce qui est vérifié par chromatographie.

L'éluat, évaporé à sec à basse température, laisse un résidu d'hétérosides et un excès de sulfate dipotassique. De ce mélange cristallin, les hétérosides sont extraits par de l'alcool à 80° au bain-marie bouillant. On concentre jusqu'à obtention d'une solution aqueuse d'hétérosides dont le pH est amené à 6,5 par addition de citrate trisodique en solution aqueuse à 10 p. 100.

III - HYDROLYSE ENZYMATIQUE

A.) GENERALITES : HYDROLYSE DES HETEROSIDES SOUFRES

L'étude de ces hétérosides peut se faire directement sur les molécules natives ou sur les produits issus de leur hydrolyse. Celle-ci est provoquée, soit par l'action d'un "complexe enzymatique", la myrosinase ou glucosinolase (Mc GIBBON et ALLISON, 1970), soit par l'action d'un acide minéral.

L'hydrolyse enzymatique conduit en général à la formation d'un isothiocyanate ou parfois d'un thiocyanate tandis que l'hydrolyse acide donne des nitriles, ce que l'on peut schématiser de la façon suivante :

1) Formation d'un isothiocyanate.-

$$R\text{-}\underset{\underset{N\text{-}OSO_3^-}{\|}}{C}\text{-}S\text{-Glucose} \xrightarrow[pH\ 6,5\text{-}7]{Enzyme} R\text{-}N = C = S + SO_4^{2-} + \text{Glucose}$$

On notera en outre que certains isothiocyanates provenant de l'hydrolyse . instables se cyclisent aussitôt pour former des dérivés de l'oxazolidine thione (LANGER et GSCHWENDTOVA, 1969).

2) Formation d'un thiocyanate.-

$$R\text{-}\underset{\underset{N\text{-}O\text{-}SO_3^-}{\|}}{C}\text{-}S\text{-Glucose} \xrightarrow{Enzyme} R\text{-}S\text{-}C \equiv N + SO_4^{2-} + \text{Glucose}$$

C'est le cas de l'allylthiocyanate dans le Thlaspi arvense L (GMELIN et VIRTANEN, 1959).

3) Formation d'un nitrile.- (GMELIN et VIRTANEN, 1961)

$$R-\underset{\underset{N-O-SO_3^-}{\|}}{C}-S-Glucose \quad \underline{Acide\ minéral} \quad R-C \equiv N + S + SO_4^{2-} + Glucose$$

La myrosinase est très largement répandue dans les familles à hétérosides soufrés et a fait l'objet de nombreuses recherches : NEUBERG (1923), NEUBERG et WAGNER (1926) ; SANDBERG et HOLLY (1934) ; ETTLINGER et LUNDEEN (1956) ; NAGASHIMA et UCHIYAMA (1959) ; STAHMANN, LINK et WALKER (1967) ; TSURDO, YOSHIDA et HARA (1967).

Les travaux de GMELIN et VIRTANEN (1959) ; GAINES et GUEING (1960) ; SCHWIMMER (1960) ont montré que cette thioglucosidase a en réalité une double activité : de type glucosidase et de type sulfatase.

Le mécanisme de son action ainsi que le rôle joué par la vitamine C ont été élucidés par ETTLINGER et alii (1961).

D'autre part, dès 1893, GUIGNARD avait proposé une technique d'histolocalisation.

B.) PREPARATION DE LA MYROSINASE

La myrosinase est préparée selon la méthode de SANDBERG et HOLLY (1932).

100 g de graines de Moutarde blanche (Sinapis Alba L) pulvérisées sont mises en contact de 300 ml d'eau à

l'étuve à 40° C. Après cinq heures de macération, le mélange est filtré avec expression à travers une toile. Le filtrat est additionné du même volume d'alcool à 80°. On filtre sur papier. Le nouveau filtrat hydro alcoolique obtenu est dilué à 2,5 fois son volume avec de l'alcool à 90°. Après centrifugation, on recueille le précipité de myrosinase qui est lavé à l'alcool puis à l'éther et séché sous vide durant vingt-quatre heures. La myrosinase pulvérisée conserve son activité pendant au moins trois mois dans un dessiccateur à P_2O_5. Pour 100 g de graines, nous avons obtenu 2,06 g d'enzyme.

Préparation de la Myrosinase

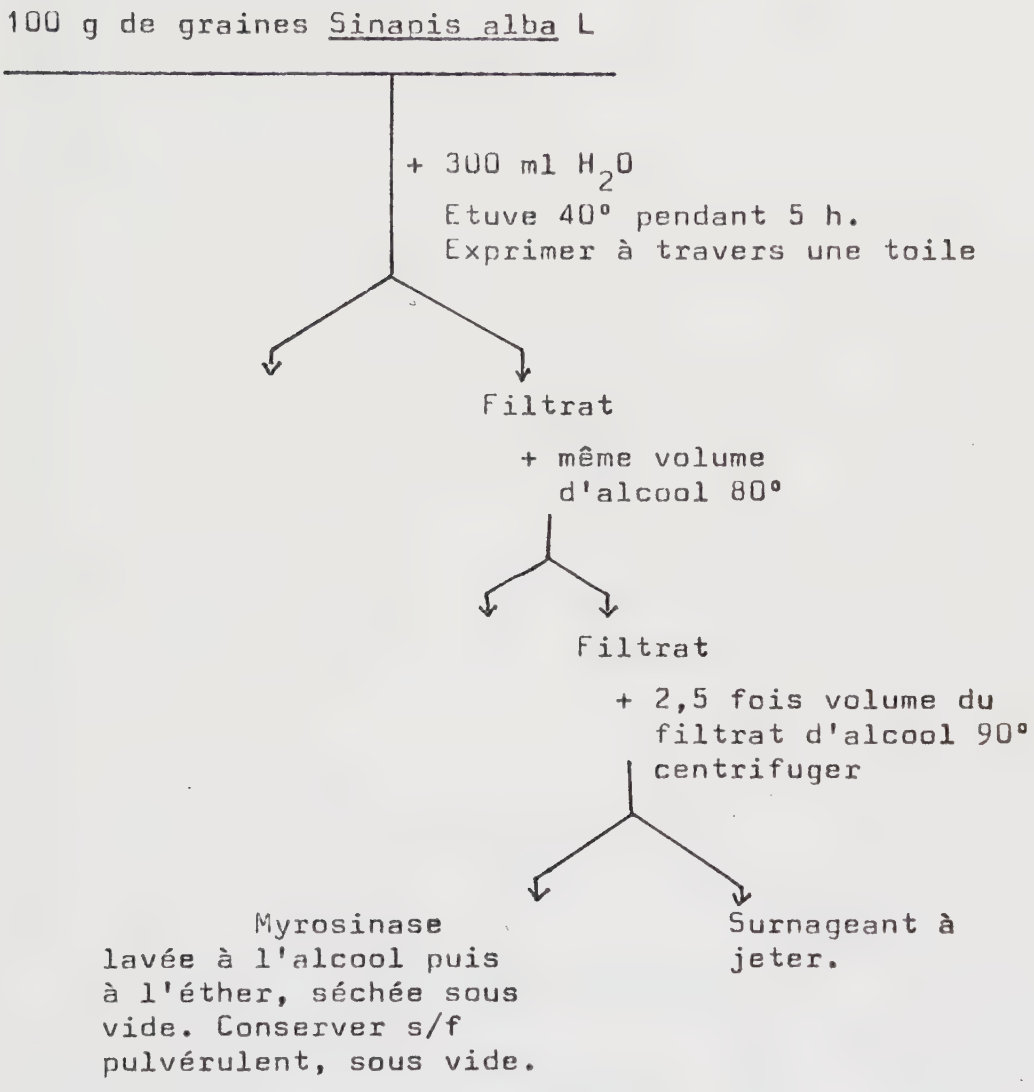


Figure 9

C.) CONDITIONS D'HYDROLYSE

A l'extrait aqueux d'hétérosides soufrés dont le pH oscille entre 6,5 et 7, on ajoute une suspension aqueuse d'enzyme. Dans le cas d'un extrait à partir de 1 Kg d'écorces de racine nous avons utilisé 1 g de myrosinase délayée dans 10 ml d'eau distillée. Pour augmenter la réactivité de l'enzyme, on ajoute au milieu d'hydrolyse des traces d'acide L-ascorbique (SCHWIMMER, 1961). Afin que l'hydrolyse soit complète DELAVEAU (1953) propose un excès de myrosinase et un temps de contact assez prolongé. Sans nous cacher toutefois, avec cet auteur, que la teneur en isothiocyanate ultérieurement récupérable diminue fortement avec le temps, nous avons adopté une durée de macération de 10 à 12 h. à la température du laboratoire, conditions qui nous ont paru les plus favorables. L'hydrolysat renferme du glucose, des ions sulfates et des isothiocyanates.

D.) ETUDE DES ISOTHIOCYANATES FORMES

L'hydrolysat peut contenir deux sortes d'isothiocyanates.

1) Isothiocyanates volatils.-

Ils sont entraînés par la vapeur d'eau. Leur étude se fera par deux méthodes :

á. Chromatographie en phase gazeuse des isothiocyanates

- Conditions opératoires

Appareil ; GIRDEL

Colonne DEGA
" OV 225

Gaz vecteur : Azote (25 ml/min)

Température d'injection 200°

Température de la colonne 80°

Détecteur : à ionisation de flamme

Produit injecté : 10 l d'une solution chloroformique d'isothiocyanate.

- Résultats

Avec la colonne DEGA, nous avons obtenu pour différents étalons d'isothiocyanates les temps de rétention indiqués dans le tableau n° XXX.

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE DES ISOTHIOCYANATES

	Nature de R						
	Iso-propyl	Methyl	Ethyl	Butyl	Propyl	Iso-butyl	n-Butyl
Temps de rétention	27	31	31	45	52	62	91

Colonne : DEGA

R - N = C = S

Tableau XXX

La colonne DEGA ne permet donc pas de distinguer méthyl et éthyl-isothiocyanates. Cette différentiation peut toutefois être obtenue par l'emploi de la colonne OV 225. Dans ce cas, le pic du méthyl isothiocyanate apparaît après 16 mn tandis que celui de l'éthyl isothiocyanate ne le fait seulement qu'après 19 mn.

b. Chromatographie sur papier des thiourées

Les isothiocyanates sont transformés en thiourées par un mélange de méthanol-ammoniaque (1 : 1, v/v). On laisse poursuivre la réaction à la température du laboratoire durant une nuit. Le solvant est ensuite évaporé à sec sous vide à une température n'excédant pas 40° C. Le mélange de thiourées est recristallisé dans l'acétate d'éthyle.

Pour la chromatographie, on utilise 1 mg au moins de thiourée dissoute dans 1 ml de méthanol. On réalise une chromatographie descendante sur papier Whatman n° 1

2) Isothiocyanates non volatils.-

Ils sont extraits de l'hydrolysat après entraînement des isothiocyanates volatils, soit par contre-courant au moyen de l'éther éthylique, soit dans un appareil de Soxhlet par le chloroforme.

Pour opérer par cette dernière méthode, l'hydrolysat est concentré à 50 ml et incorporé à 200 g de célite.

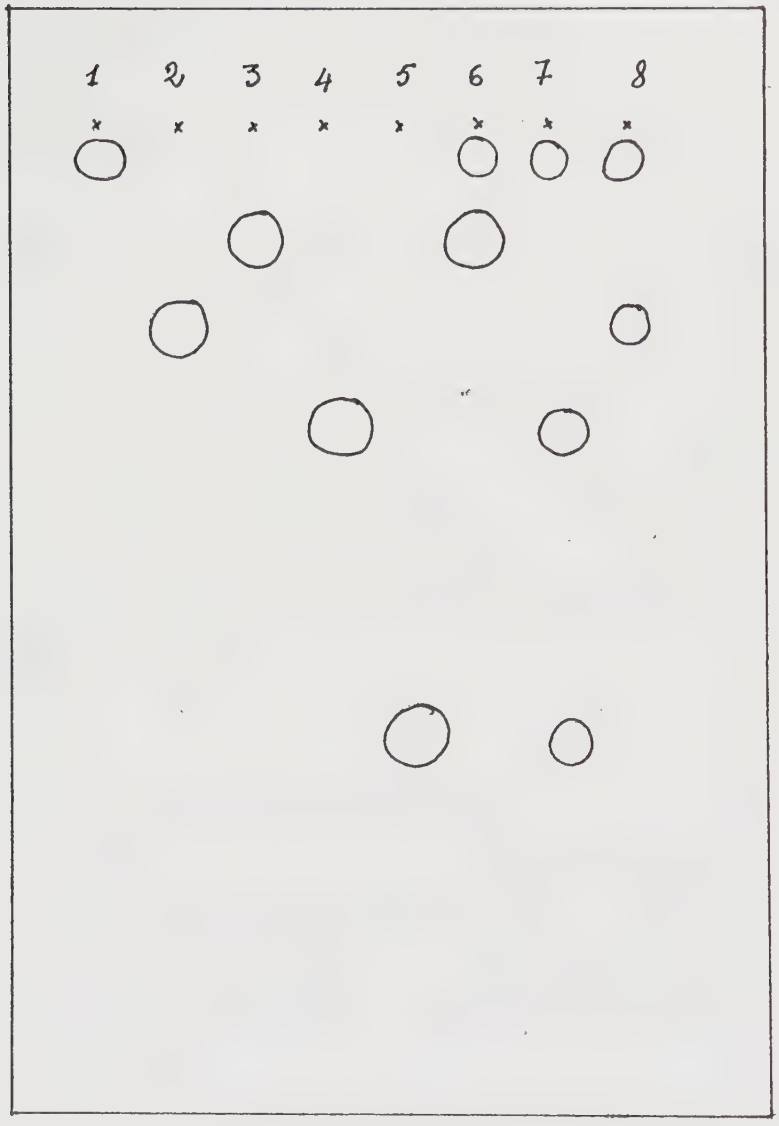
Ce mélange du support et des isothiocyanates est séché dans un dessiccateur à anhydride phosphorique. Il est ensuite mis dans le corps d'un Soxhlet et extrait par le chloroforme.

Après extraction par l'une des deux méthodes, les isothiocyanates non volatils sont purifiés sur une colonne d'alumine ou de silice. L'étude analytique est ensuite réalisée par les techniques physico-chimiques habituelles.

Chromatographie descendante sur papier

Whatman n° 1 des thiourées

Solvant : chloroforme saturé d'eau



1 = Méthyl ; 2 = Allyl ; 3 = Ethyl ; 4 = Isopropyl ;

5 = benzyl ; 6 = Capparis tomentosa Lam.

7 = Boscia senegalensis Lam. ; 8 = Capparis biloba Hutch. et Dalz.

Figure 10

IV - PREPARATION DES HETEROSIDES SOUFRES PAR CHROMATOGRAPHIE PREPARATIVE SUR PAPIER

A.) LIQUEUR EXTRACTIVE

1 Kg d'organe séché, pulvérisé et dégraissé, est extrait par 3,5 l de méthanol-eau (7 : 3, v/v). On concentre sous pression réduite à 1 l. Après filtration sur célite, le filtrat est dilué à 2 l par du méthanol. On le porte à ébullition quinze minutes en présence de 100 g de charbon végétal. Après refroidissement et filtration, on concentre sous pression réduite à 300 ml. Cette solution est portée à 0°C toute une nuit. Après nouvelle filtration, on le concentre à 40 ml, sous pression réduite.

B.) CONDITIONS DE LA CHROMATOGRAPHIE

Nous avons utilisé le papier Whatman n° 3 MM dans les mêmes conditions que dans le chapitre "Etude chromatographique". Dépôts : 5 ml de la solution sur une longueur de 30 cm solvant : n-butanol - éthanol - eau (4 : 1 : 4, v/v).

Troisième Chapitre

APPLICATION AUX ORGANES ETUDIES

I - CHROMATOGRAPHIE PREPARATIVE SUR PAPIER

Dans chaque cas, il nous a fallu préparer successivement de 50 à 75 chromatogrammes pour disposer d'une quantité suffisante d'hétérosides soufrés. Cette technique laborieuse mais permettant des résultats précis, a été appliquée aux écorces de racines des plantes suivantes : Boscia senegalensis Lam. ; Buchholzia coriacea Engl. ; Cadaba farinosa Forsk. ; Capparis biloba Hutch. et Dalz. ; Euadenia trifoliolata Oliv. Euadenia eminens Hook ; Maerua angolensis DC. ; Maerua ovalifolia Gambess. ; Ritchiea capparoides Britten.

A.) HETEROSIDES SOUFRES ISOLES

Après développement des chromatogrammes, la position des différents hétérosides soufrés est repérée par révélation d'une mince bande latérale dans le sens de la longueur. On découpe les bandes transversales contenant les hétérosides et élue ces derniers par de l'éthanol à 80° au bain-marie chaud. Après évaporation à sec, on obtient une poudre amorphe qui, par recristallisation dans le méthanol, fournit des cristaux d'hétérosides soufrés.

1) Euadenia trifoliolata Oliv.-

De cette plante, nous avons obtenu cinq bandes notées A, B, C, D et E.

a. Etude du produit A

Les bandes A obtenues à partir de 62 chromatogrammes sont éluées par l'alcool à 80° au bain-marie chaud. L'évaporation de l'éluat laisse un résidu amorphe qui, par recristallisation dans du méthanol, aboutit à 15 mg de petits cristaux en aiguilles.

$F = 150°\ C$ (microscope Reichert)

$\alpha_D = -\ 12,3$ (eau ; C = 1)

- Analyse

Trouvé C = 27,56 ; H = 4,9 ; N = 2,70 ; S = 20,30
O = 36,78

Calculé pour $C_{11}H_{20}O_{10}NS_3K_1H_2O$ (479,48)

C = 27,55 ; H = 4,59 ; N = 2,92 ; S = 20,1
O = 36,7

- Acétylation

Dans une fiole conique de 100 ml, on introduit 0,2 g de produit A, 5 ml de pyridine et 5 ml d'anhydride acétique. Le mélange est laissé à la température du laboratoire durant une nuit. On évapore à sec sous basse pression. Le résidu est lavé trois fois par du méthanol pour éliminer complètement la pyridine. Le produit ainsi acétylé est recristallisé à deux reprises dans le méthanol.

$F = 146°\ C$ (microscope de Reichert)

$\alpha_D = -\ 16,6°$ ($CHCl_3$; C = 1)

- Analyse

Trouvé C = 35,60 ; H = 4,9 ; N = 2,75 ; S = 15,25

Calculé pour $C_{19}H_{28}O_{14}NS_3K_1H_2O$

C = 35,23 ; H = 4,67 : N = 2,16 ; S = 14,85

- Hydrolyse

0,5 mg de ce produit est dissous dans le tampon de phosphate disodique à pH 6,5 et additionné d'une suspension de myrosinase. Ce mélange est laissé au laboratoire durant toute une nuit. L'isothiocyanate formé est séparé par épuisement du milieu d'hydrolyse par l'éther éthylique. Après évaporation du solvant, reste un résidu huileux contenant l'isothiocyanate. Celui-ci est transformé en thiourée par addition d'un mélange à parties égales de méthanol-ammoniaque.

La chromatographie descendante sur papier Whatman n° 1 dans le solvant chloroforme saturé d'eau (KJAER, 1959) donne un Rf = 0,77.

Ces données nous permettent d'identifier le produit A à la glucoibérine qui donne par hydrolyse enzymatique du méthyl sulfonyl-3 propyl isothiocyanate.

b. Etude du produit B

Les bandes B sont éluées dans les mêmes conditions que les bandes A. On obtient un produit qui, par recristallisation dans le méthanol, donne le produit B pur.

Ce produit commence à se décomposer vers 198°.

$\alpha_D = -28,7°$ ($\pm$ 1,6°) (eau - C = 1)

- Analyse centésimale

Trouvé C = 25,86 ; H = 3,95 ; N = 3,76 ; S = 17,61

Calculé pour $C_8H_{14}O_9S_2K$

C = 25,92 ; H = 3,96 ; N = 3,72 ; S = 17,61

- Hydrolyse

Réalisée sur 0,5 mg de produit dans les mêmes conditions que précédemment. De l'hydrolysat, l'isothiocyanate formé est extrait par entraînement à la vapeur d'eau et transformé en thiourée par le mélange méthanol-ammoniaque.

La chromatographie sur papier Whatman n° 1 dans le solvant chloroforme saturé d'eau, par rapport à des témoins, montre qu'il s'agit de la méthylthiourée.

Les spectres IR et RMN de ce produit B sont identiques à ceux de la méthyl thiourée de référence.

L'hydrolysat évaporé sous vide et repris par le méthanol donne un produit cristallin qui est dissous dans un peu d'eau. L'ion sulfate est déterminé par précipitation à l'état de sulfate de baryum.

L'extrait méthanolique contenant le sucre est chromatographié sur papier Whatman n° 3 MM dans les deux

systèmes de solvants :

. n-butanol - éthanol - eau (4 : 1 : 4, v/v)
. n-butanol - pyridine - eau (6 : 4 : 3, v/v)

Le sucre obtenu est identifié au glucose au moyen de la glucose oxydase (papier réactif spécial).

- Acétylation

Sur 1 mg de produit dans les mêmes conditions que précédemment. Le produit B acétylé est cristallisé à deux reprises dans le méthanol.

$F = 211°$ C (Microscope de Reichert)
$\alpha_D = - 31°$ ($CHCl_3$ C = 1).

- Analyse

Trouvé C = 35,64 ; H = 4,25 ; N = 2,45 ; S = 11,70

Calculé pour $C_{16}H_{22}O_{13}S_2K$

C = 35,62 ; H = 4,21 ; N = 2,60 ; S = 11,88

Ces différentes données nous permettent d'assimiler le produit B à la glucocapparine dont l'hydrolyse conduit au méthyl isothiocyanate.

c. Etude du produit C

Pour ce glucoside, nous avons obtenu 0,5 mg de produit. Il a été soumis à une hydrolyse enzymatique et l'isothiocyanate formé est transformé en thiourée.

Par chromatographie avec le solvant chloroforme

saturé d'eau, le Rf est identique à celui de l'allyl thiourée dont le glucoside est la sinigrine.

d. Etude du produit D

Nous obtenons 1,5 mg du produit D. Par l'étude chromatographique sur papier Whatman n° 3 MM en prenant la glucotropaeoline comme référence, nous obtenons une valeur de Rf = 0,63 avec le solvant n-butanol - éthanol - eau (4 : 1 : 4, v/v).

- Hydrolyse

Réalisée sur 1 mg de glucoside dissous dans 2 ml de tampon phosphate disodique à pH 6,5. L'isothiocyanate obtenu par action de la myrosinase est extrait par l'oxyde d'éthyle et purifié sur une colonne d'alumine neutre. La génine obtenue cristallise dans l'eau chaude en fines aiguilles jaunes.

F = 50 - 51° (Reichert)

α_D = - 25°5 (méthanol C = 1)

UV (Méthanol)

max = 243 m 204 m et 218 m

Ces maximums d'absorption correspondent aux valeurs indiquées par KJÆR (1960) pour le méthyl éthyl-2 oxazolidinethione.

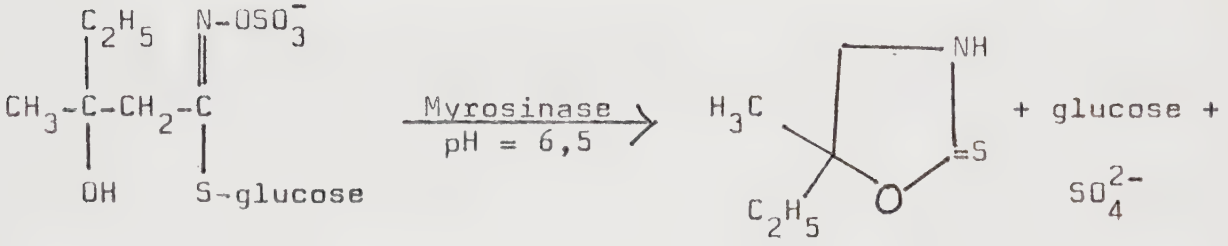
- Analyse

Trouvé C = 49,95 ; H = 7,80 ; N = 9,65 ; S = 22,10

Calculé pour $C_6H_{11}NOS$

C = 49,62 ; H = 9,64 ; N = 9,65 ; S = 22,06

Ces résultats nous conduisent à donner au produit D la structure suivante : hydroxy éthyl-2 butyl glucosinolate qui, par hydrolyse enzymatique, donne la méthyl-5 éthyl-5 oxazolidinethione.



Glucocleomine

e. Etude du produit E

Nous avons obtenu, par le même procédé que pour le produit A, 5,2 mg de produit E cristallisé. Après acétylation portant sur 4 mg de ce produit, on obtient des cristaux légèrement colorés en jaune.

F = 170°

α_D = - 16,9

- Analyse

Trouvé C = 40,31 ; H = 5,30 ; N = 2,13 ; S = 10,1

Calculé pour $C_{23}H_{32}O_{14}NS_2K,H_2O$

C = 40,30 ; H = 5,23 ; N = 2,13 ; S = 9,78

Le spectre IR dans K Br montre une bande à 1705 cm^{-1} caractéristique de la fonction cétone. La réaction à la dinitro-2,4 phényl hydrazine est positive.

Après hydrolyse enzymatique et préparation de la thiourée correspondant à ce glucoside, la chromatographie descendante sur papier avec le solvant chloroforme saturé d'eau montre une seule tache ayant le même Rf que l'oxo-4 heptyl-thiourée.

Ces données nous permettent d'attribuer au glucoside extrait des bandes E la structure de la glucocapanguline.

2) Euadenia eminens Hook.

Nous avons obtenu les mêmes glucosides que dans Euadenia trifoliolata Oliv.

3) Buchholzia coriacea Engl.

Obtention de glucocapparine, glucocléomine, glucoibérine.

4) Ritchiea capparoides Britteb

Obtention de la glucocapparine.

5) Maerua angolensis DC.

Obtention de la glucocapparine.

6) Capparis biloba Hutch. et Dalz.

Nous avons obtenu, en plus des 5 glucosides trouvés dans le genre Euadenia, un glucoside F.

Bandes F

Nous avons obtenu 1,6 mg de produit F qui cristallise dans le méthanol.

F = 141,5° (Microscope de Reichert)

- Analyse

Trouvé C = 46,21 ; H = 6,30 ; N = 7,92 ; O = 27,42 ;
S = 11,7

Calculé pour $C_{20}H_{31}N_3O_9S_2$

C = 46,01 ; H = 6,00 ; N = 8,06 ; O = 27,61 ;
S = 12,30

α_D = - 12°,1 (C = 1 ; $CHCl_3$)

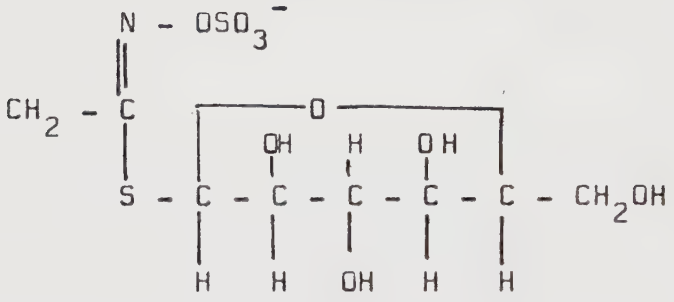
max = 288 nm

min = 252

L'hydrolyse enzymatique libère du SCN^-, du glucose, du sulfate et un dérivé indolique à réaction d'Ehrlich positive.

Le point de fusion de ce glucoside est identique à celui de la glucobrassicine de synthèse qui nous a été aimablement fournie par le Professeur SCHRAUDOLF.

Nous n'avions pas assez de produit pour continuer l'analyse plus loin, mais ces caractéristiques physico chimiques sont en accord avec ceux de la glucobrassicine décrite dans la littérature.



II - ETUDE DES HETEROSIDES SOUFRES APRES HYDROLYSE ENZYMATIQUE

Cette technique a été appliquée aux feuilles des 38 espèces. Dans plusieurs cas où nous n'avions pas une quantité suffisante pour déterminer tous les isothiocyanates, nous nous sommes efforcé de mettre uniquement en évidence la glucocapparine, hétéroside soufré caractéristique de la famille des Capparidaceae.

Nous n'avons pas procédé toujours à l'entraînement de l'isothiocyanate de méthyle par la vapeur d'eau, mais nous avons extrait tous les isothiocyanates formés de l'hydrolysat par le chloroforme. Ceci pour éviter quelquefois l'effet dénaturant d'une température excessive.

Les deux techniques de purification précédemment décrites ont été essayées. La méthode utilisant les résines échangeuses d'ions nous a donné les meilleurs résultats.

A.) SEPARATION ET ETUDE DES PRODUITS DE L'HYDROLYSAT

Après hydrolyse enzymatique, les isothiocyanates formés seront étudiés selon deux méthodes :

1) Les isothiocyanates volatils sont entraînés par la vapeur d'eau. Ils sont étudiés, soit directement par chromatographie gazeuse, soit par chromatographie sur papier après transformation en thiourée selon la méthode précédemment décrite. Les isothiocyanates non volatils extraits par

l'éther ou le chloroforme sont étudiés par des méthodes physico-chimiques après leur purification sur colonne d'alumine.

2) Les isothiocyanates sont directement extraits par le chloroforme. Cette méthode provoque la perte du méthyl isothiocyanate mais, par contre, donne un bon rendement avec les isothiocyanates non colatils. Leurs études sont effectuées comme précédemment.

Ces méthodes nous ont permis d'isoler les produits suivants des feuilles de différents Capparidaceae.

1. Isothiocyanate de méthyle dont l'étude est faite après transformation en méthyl-thiourée.

2. Isothiocyanate d'allyle étudié, comme dans le cas précédent, sous forme d'allyl-thiourée.

3. Vinyl-5 Oxazolidine thione-2

   Spectre de Masse M^+ $\frac{m}{e} = 129$

   $\frac{m}{e} = 68$

   $\frac{m}{e} = 27$

   RMN et IR identique à la vinyl-5 oxazolidine thione-2

   - Analyse centésimale

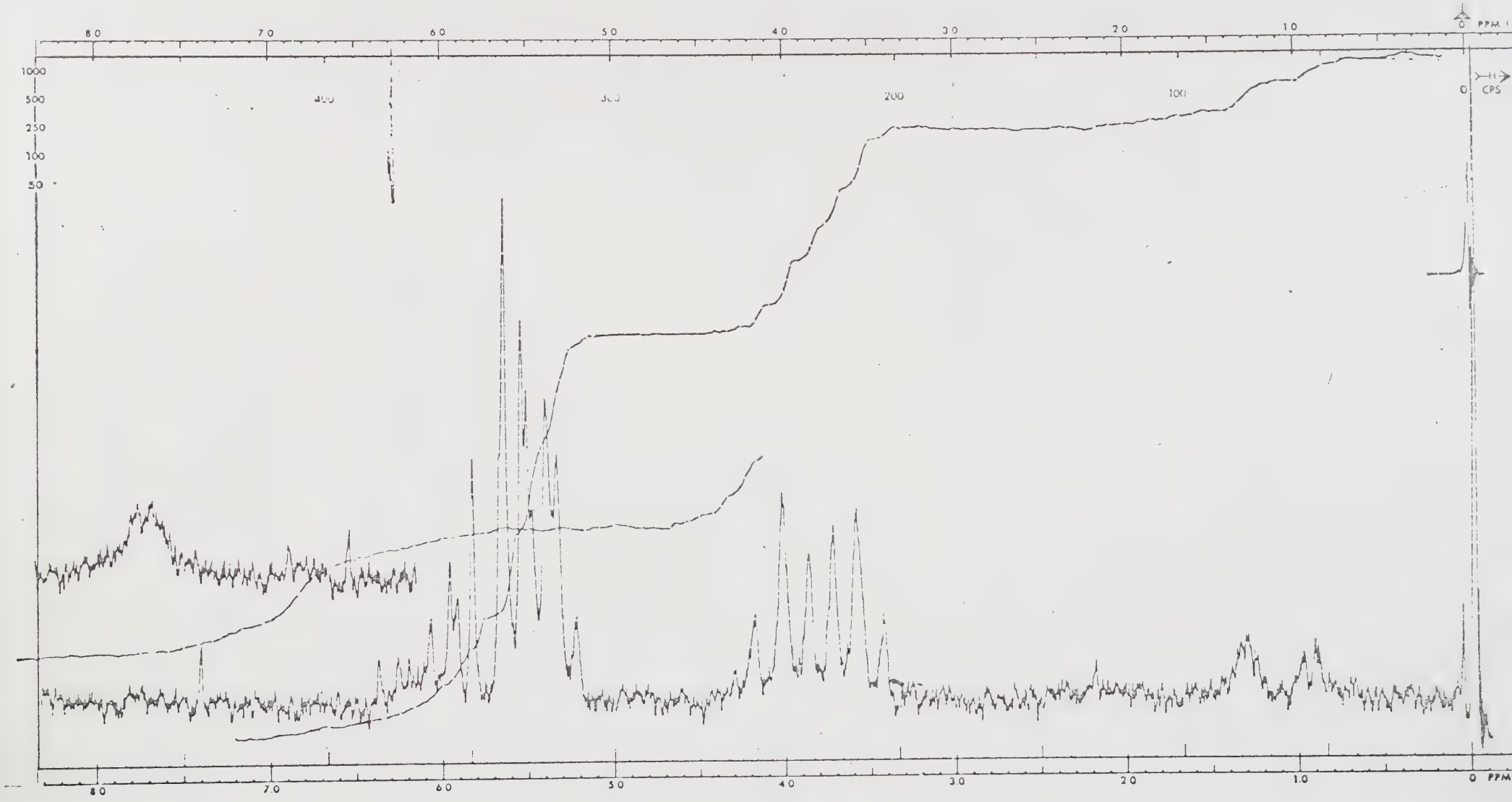
   Trouvé C = 46,66 ; H = 5,55 ; N = 10,75 ; S = 24,47

Calculé pour C_5H_7ONS

C = 46,49 ; H = 5,46 ; N = 10,84 ; S = 24,82

4. Cleomine : Les études sont réalisées comme dans le chapitre "Chromatographie préparative sur papier".

5. Nous avons obtenu d'autre part, en très petite quantité, l'éthyl isothiocyanate, le propyl isothiocyanate, le butyl isothiocyanate et le benzyl isothiocyanate. Leur identification à été faite directement par chromatographie en phase gazeuse, par chromatographie sur papier, d'autre part après transformation en thiourées correspondantes (Whatman n° 1, solvant : chloroforme saturé d'eau).



Spectre RMN de Vinyl-5 Oxazolidine thione-2 (solvant : $CHCl_3$)

Figure 11

Tableau XXXI

Hétérosides soufrés isolés des

Capparidaceae

	GLUCOSINOLATES ISOLES							
	Gcp	Gcl	Gib	Gcgl	Gbr	Gtp	Sg	Autres hétérosides soufrés
Boscia madagascariensis Moust.								
Feuilles	+							
Boscia senegalensis Lam.								
Feuilles	+							Isopr.
Tige	+							
Fruits	+							Isop ; Bu
Buchholzia coriacea Engl.								
Feuilles	+	+	+					
Ecorces de tronc	+	+	+					
Ecorces de racine	+	+	+			+		
Fruit	+	+	+			+		
Cadaba farinosa Forsk								
Feuilles	+							
Tiges	+							
Capparis albitrunca Hook.								
Ecorce de tronc	+							
Capparis assamica Hook.								
Feuilles	+		+					
Capparis biloba Hutch. et Dalz.								
Feuilles	+	+	+	+	+	+	+	
Tige	+	+	+	+	+	+		
Capparis corymbosa Lam.								
Feuilles	+	+						
Ecorces de racines	+	+						Eth
Capparis etythrocarpos Isert.								
Feuilles	+	+	+					
Ecorces de Racine	+	+	+			+		
Capparis flavicans Kurz.								
Feuilles	+							

Capparis micracantha DC.							
Feuilles	+						
Capparis pentaphylla							
Feuilles	+						
Capparis pyrifolia Lam.							
Feuilles	+	+					
Capparis sepiaria Wall.							
Feuilles	+						
Capparis tomentosa Lam.							
Feuilles	+	+					Eth.
Tige	+	+					
Capparis Tweediana Eichl.							
Ecorce de tronc	+						
Capparis urophyla F. Chun							
Feuilles	+						
Capparis zeylanica Linn.							
Feuilles	+						
Cladostemon paradoxus Br. et Watke							
Feuilles	+						
Crateva adansonii DC							
Feuilles	+						
Crateva erythrocarpa Gagnep							
Feuilles	+					+	
Crateva graveana Baill.							
Feuilles	+	+					
Crateva nurvala Buch.							
Feuilles	+					+	
Euadenia eminens HooK.							
Feuilles	+	+	+	+	+		
Tige	+	+	+	+	+		
Ecorce de racine	+	+	+	+	+		
Euadenia trifoliolata Oliv.							
Feuilles	+	+	+	+	+		
Ecorce de tronc	+	+	+	+	+		
Ecorce de racine	+	+	+	+	+		
Maerua angolensis DC.							
Feuilles	+						
Ecorce de racine	+						
Fruits	+						
Maerua ovalifolia Gambess.							
Ecorce de racine	+						

Morisonia americana Linn.					
Feuilles	+	+	+		+
Neothorelia laotica Gagnep.					
Feuilles	+				
Poilanedora unijuga Gagnep.					
Feuilles	+	+			
Ritchiea capparoïdes Britt.					
Feuilles	+				
Tiges	+	+			
Ecorce de racine	+	+			
Ritchiea reflexa Gilg et Bened.					
Feuilles	+				
Tiges	+	+			
Steriphoma parodoxum Endl.					
Feuilles	+	+			
Stixis obtusifolia Baill.					
Feuilles	+				
Stixis scandens Lour.					
Feuilles	+				
Stixis suaveolens Roxb.					
Feuilles	+				
Thylachium africanum Lour.					
Feuilles	+				
Tirania purpurea Pierre					
Feuilles	+				

Gcp = glucocapparine
Gib = glucoibérine
Gbr = Glucobrassicine
Sg = Sinigrine
Bu = Butyl glucosinolate
Gcl = Glucocléomine
Gcgl = Glucocapanguline
Gtp = Glucotropaeoline
IsoPr = Isopropylglucosinolate
Et = Ethyl glucosinolate

ETUDE DES ACIDES AMINES

l'ornithine en remontant la chaine. Mais chez les végétaux, la voie de l'acide glutamique est prépondérante.

Cette coexistance de bases alcaloïdiques à ammonium quaternaires et d'hétérosides soufrés sous forme d'anions n'est peut-être pas fortuite. Ainsi a-t-on isolé des hétérosides soufrés des Capparidaceae et des Cruciferae sous forme de tétraméthyl ammonium.

Il est évident que pour une telle étude, le choix des espèces, celui du moment de la récolte, les conditions de celle-ci et le mode de classification sont particulièrement importants. C'est pourquoi nous n'avons pu retenir que 7 espèces correspondant à 7 genres dont nous avons nous-même assuré la récolte au cours de l'enquête éthnobotanique menée (1971) en Afrique Occidentale. Les feuilles ont été récoltées entre le 6 et 20 juillet. Il est important de préciser la nature du climat et l'heure de la récolte pour déterminer le moment d'une intense activité métabolique chez le végétal considéré. Les feuilles récoltées ont été desséchées à l'étuve à 30° C. dans des délais n'excédant pas 3 heures, précaution destinée à éviter le plus possible des phénomènes fermentaires qui engageraient les acides aminés. C'est donc en excellent état de conservation que les feuilles ont été traitées au laboratoire en vue de l'extraction des acides aminés et de leur dosage.

Pour ce faire, nous avons utilisé des techniques d'extraction et d'identification les plus récemment décrites et qui ont déjà fourni des résultats adéquats dans de telles analyses. Le dosage a été effectué selon la méthode

de séparation sur résine et mesure photométrique de la coloration obtenue à l'aide de la ninhydrine en bénéficiant de l'automatisation (analyseur Technicon).

I - EXTRACTION DES ACIDES AMINES

C'est à la méthodologie de GIRRE (1968) que nous nous sommes adressé, méthodologie qui a bénéficié des travaux de différents auteurs (STEWART 1963 ; EDREVA-KANDOVA 1964 ; AFRIKYAN 1964 ; MANANDAS 1965 ; MADAN 1967).

Un échantillon d'environ 150 mg de feuilles pulvérisées (Tamis Afnor n° 28) est soumis à une extraction par agitation magnétique avec 50 ml de mélange éthanol-eau (8 : 2, v/v) pendant 20 mn dans une fiole de 250 ml. On centrifuge et on recommence cette extraction 3 fois durant 10 mn avec 25 ml de solvant. Ensuite deux nouvelles extractions sont réalisées de la même manière avec 25 ml du même solvant porté à un pH d'environ 2,5 par addition d'acide chlorhydrique N. Après la dernière centrifugation, les liquides d'extraction sont réunis dans un ballon et concentrés à 15 ml sous pression réduite à une température n'excédant pas 40° C. Le liquide résiduel est transvasé dans une ampoule à décantation et le ballon est lavé deux fois de suite par 15 ml d'acide acétique-eau (5 : 95, v/v). La solution d'extraction est privée partiellement des constituants lipidiques et des pigments par agitation avec de l'éther de pétrole (fractions de 30 ml à chaque lavage) jusqu'à ce que le solvant reste incolore.

La solution aqueuse acide purifiée contenant les acides aminés est transvasée dans un ballon et l'ampoule est rincée par deux fois 10 ml d'acide acétique-eau (5 : 95, v/v). On concentre finalement à 1 ml et laisse au froid toute une nuit, ce qui favorise la floculation de la chlorophylle résiduelle. On filtre ensuite sur verre fritté et lave le ballon avec 1 ml du mélange eau-acide acétique (95 : 5, v/v) 4 fois. C'est sur cet extrait que seront effectués séparation et dosage des acides aminés.

II - SEPARATION DES ACIDES AMINES

Elle est faite par la technique d'électrochromatographie sur papier (BISERTE 1958 ; BISERTE, DAUTREVAUX et BOULANGER 1963).

Dans un premier temps, l'électrophorèse sur papier réalisée dans un tampon de pH 1,9 sépare les acides aminés en différentes fractions, puis la chromatographie intervient pour scinder chacun de ces groupes en ses divers constituants.

A.) ELECTROPHORESE

Appareil : dispositif d'électrophorèse sur papier en V renversé, type Dullum.

Tampon : pH 1,9

Acide formique 60 ml
Acide acétique 360 ml
eau distillée 95P 6 l

Papier : Whatman n° 3 MM

Conditions opératoires. Le papier, imbibé de tampon pH 1,9 et essoré, est placé sur l'appareil. Le dépôt est de 20 à 40 µl ; la tension est de 400 V pendant un temps de migration de 4 heures. La migration s'effectue de l'anode à la cathode.

La feuille retirée ensuite avec précaution est séchée à 40° dans une étuve ventilée.

B.) CHROMATOGRAPHIE

Cuve : 40 X 50 X 50

Papier :

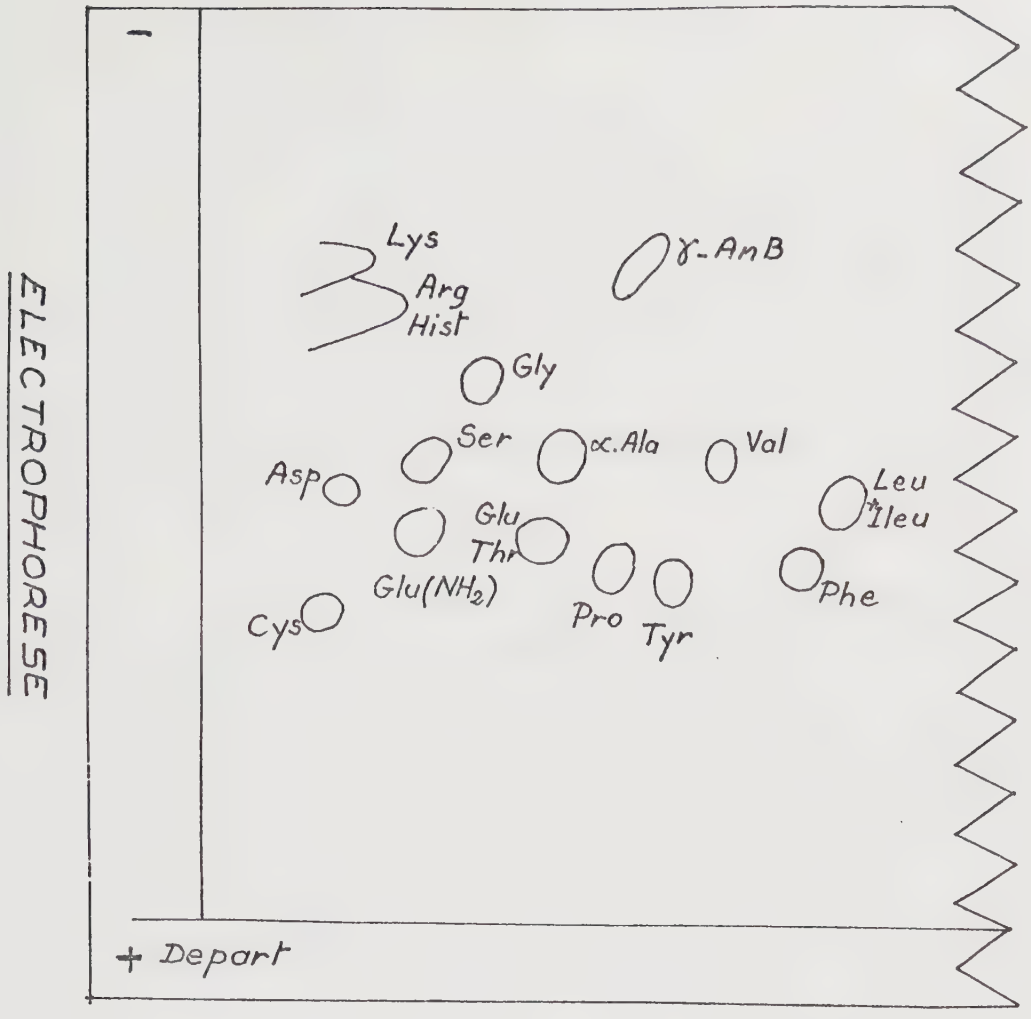
La piste d'électrophorèse constitue la bande de départ pour la chromatographie. Les dents permettent un écoulement régulier du solvant. Le temps de migration est de 4 à 5 h.

Solvant : n-butanol - acide acétique - eau (12 : 3 : 5, v/v)

Après la chromatographie, la feuille est séchée dans une étude ventilée à 100° C.

C.) REVELATION

L'électrochromatogramme est plongé dans la solution de ninhydrine (ninhydrine - méthanol ; 2 : 100, v/v) et essoré. On le fait sécher ensuite 10 mn à l'étuve à 100° C, temps nécessaire pour le développement des colorations. Tous les acides aminés se colorent en violet. Les taches apparues sont pulvérisées avec une solution aqueuse de sulfate de nickel ($NiSO_4$ $6H_2O$ - eau; 6,25 : 100, v/v) et l'on procède à un séchage à 50° C. Cette dernière opération a pour effet de fixer la coloration des acides aminés et de permettre leur conservation.



Electrochromatogramme des Acides Aminés des feuilles de Maerua angolensis DC.

Figure 12

III - DOSAGE DES ACIDES AMINES

Le dosage des acides aminés s'effectue sur un appareil autoanalyseur Technicon TSM-1 à résines échangeuses d'ions. Deux colonnes contenant de la résine chromo-beads de type $C-_3$ sont nécessaires pour doser successivement les acides aminés acides et neutres, puis les acides aminés basiques.

Les échantillons contenant les acides aminés (environ 100 μl de chaque) sont acidifiés par l'acide sulfosalicylique et centrifugés. Ils sont ensuite adsorbés sur de petits godets contenant une résine "chrome-beads" de type A. L'élution se fait à l'aide de tampons qui, mélangés dans des chambres, forment un gradient de pH de 2,60 à 4,15 pour les acides aminés acides et neutres et de 5,25 à 6,0 pour les acides aminés basiques.

On calcule les surfaces de chacun des pics de sortie des acides aminés par rapport à un étalon pesé.

On ramène à 100 g de plantes séchés la concentration de chaque acide aminé. Les résultats des dosages des acides aminés sont consignés dans le tableau XXXII.

Tableau XXXII

Teneur en amino-acides des feuilles sèches de 7 espèces de Capparideae

	PLANTES ETUDIEES						
	Boscia senegalensis	Buchholzia coriacea	Cadaba farinosa	Capparis biloba	Euadenia trifoliolata	Maerua angolensis	Ritchiae capparoïdes
Acide aspartique	60	50	40	150	220	350	130
Thréonine	60	16	66	110	2000	90	130
Serine	110	133	166	350	1640	165	1035
Asparagine	150	51	20	120	130	1140	90
Acide glutamique	45	510	100	180	340	140	50
Glutamine	270	830	450	580	430	Traces ;	660
Glycine	40	100	80	150	120	265	40
alanine -	220	333	466	530	2025	1240	630
Valine	60	66	133	100	660	420	360
Cystine	90	10		190	440	230	200
Leucine	20	50	100	180	400	280	210
Isoleucine	20	33	60	70	340	260	210
Tyrosine	10	16	33	70	50	7725	60
Phenyl alanine	30	50	50	100	400	23	240
Ac. γ amino butyrique	150	1500	266	300	1720	36	580

Proline	**Traces**	**Traces**	**Traces**	**Traces**	**Traces**	**Traces**	**Traces**	**Traces**
Lysine	30	Traces	66	150	100	110	60	
Histidine	60	Traces	16	120	90	95	110	
Arginine	Traces	Traces	66	Traces	Traces	Traces	Traces	

Teneur en acides aminés exprimée en **Mole** pour 100 g. de matière sèche de feuille.

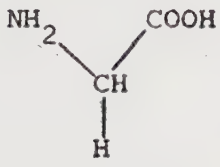
Figure n° 13

Formules des Acides Amines identifiés dans les Capparidaceae

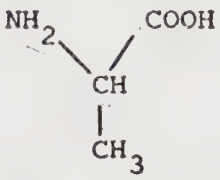
ACIDES -AMINES

SERIE GRASSE

a) chaîne linéaire

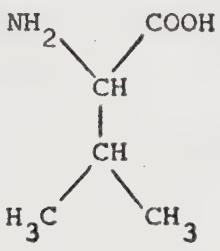


Glycine

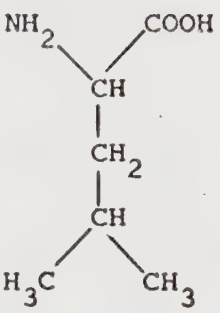


alanine

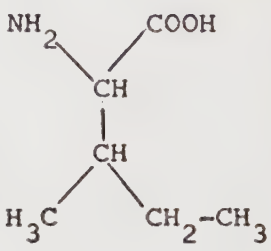
b) chaîne ramifiée



Valine

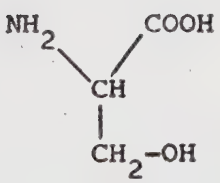


Leucine

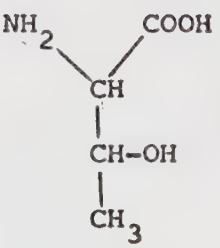


Isoleucine

c) Hydroxy-lés

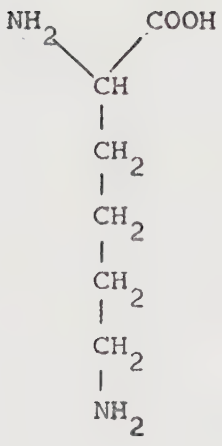


Serine

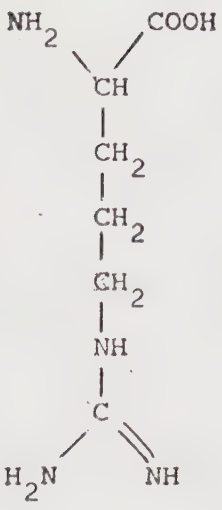


Théronine

d) basiques

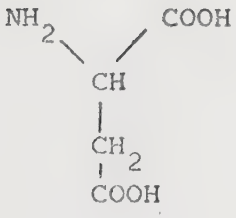


Lysine

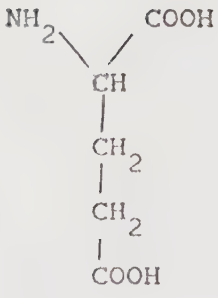


Arginine

e) diacides

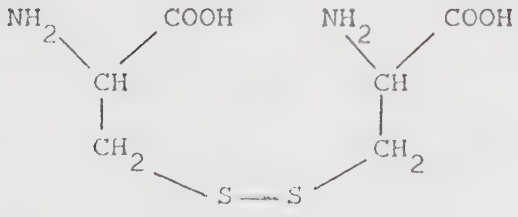


Ac. aspartique



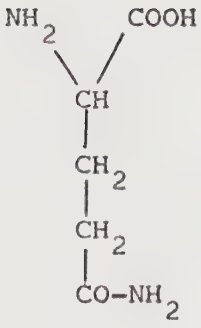
Ac. glutamique

f) soufrés

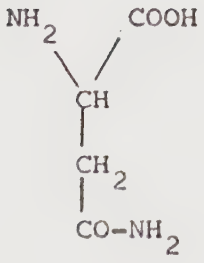


cystine

g) à liaison amide

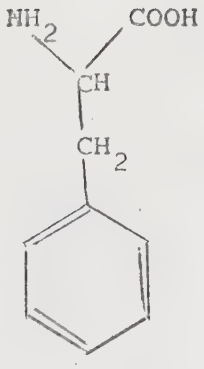


Glutamine

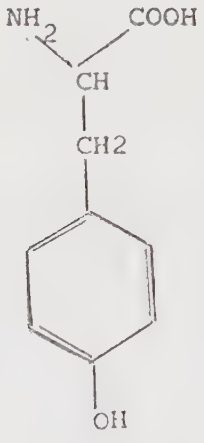


Asparagine

SERIE AROMATIQUE

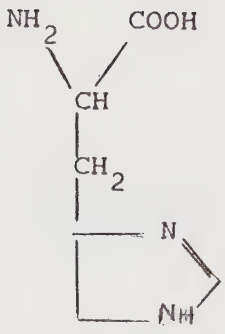


Phenylalanine

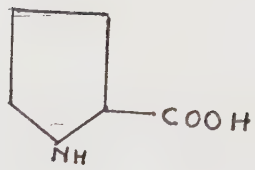


Tyrosine

HETEROCYCLES

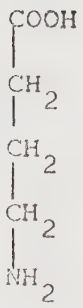


Histidine



Proline

ACIDES ϒ AMINES



Ac ϒ amino n butyrique

TROISIEME PARTIE

ESSAI DE CHIMIOTAXINOMIE DES CAPPARIDACEAE

Au terme de cette étude chimique des Capparidaceae, étude dont nous ne nous dissimulons pas les imperfections et les lacunes, il reste à examiner comment les résultats acquis peuvent être utilisés pour mieux définir la famille et en préciser la position systématique.

Tout d'abord, est-il nécessaire de rappeler que ce travail est, à notre connaissance, la première contribution d'ensemble à l'exploration chimiotaxinomique de la famille des Capparidaceae ? Jusqu'ici, les seules données chimiques dont pouvaient disposer les chimiotaxinomistes étaient très rares, sauf en ce qui concerne les hétérosides soufrés.

Citées au chapitre "Travaux antérieurs", trois publications portaient sur les composés triterpéniques, neuf sur les alcaloïdes, douze sur les hétérosides soufrés des Capparidaceae sensu lato selon PAX et HOFFMANN (1936).

Quant à nous, portant notre intérêt sur la seule famille des Capparidaceae au sens de HUTCHINSON (1967), nous avons caractérisé, et le plus souvent isolé, les substances suivantes :

hétérosides soufrés, alcaloïdes, flavonoides, proanthocyanes, acides-aminés, hydrocarbures, alcools aliphatiques, alcools triterpéniques, stérols.

On était en droit d'espérer que l'inventaire des diverses substances ainsi identifiées permettrait de fixer une sorte de silhouette chimique à chaque espèce considérée. Mais il apparaît que ces substances sont reliées par des mécanismes biogénétiques conduisant peut-être à des séries homologues et que, plus que chacun des caractères isolés, c'est à l'ensemble de ceux-ci qu'il faille s'intéresser.

De plus, il est évident qu'une exploration chimiotaxinomique doit considérer la plante comme un être vivant soumis à des influences extrinsèques et réagissant diversement, en particulier par des modifications biochimiques autant qu'anatomiques. C'est en collationnant les résultats que nous avons mieux ressenti combien la chimiotaxinomie doit se relier à l'écologie, la physiologie et à la biogéographie, ce que nous avions déjà commencé à percevoir au cours de nos recherches biochimiques.

D'autre part la multiplication des explorations portant sur une même espèce pourrait mettre à l'abri de pièges constituées par l'existence de races chimiques. Une telle préoccupation n'avait pas échappé à GMELIN et KJAER (1970) pour expliquer les divergences des résultats obtenus par BROWN et STUART à propos des hétérosides soufrés de Capparis flexuosa L.

Peut-être le mouvement de défaveur qui atteint actuellement la chimiotaxinomie est-il dû en partie à la

hâte qu'ont manifestés certains auteurs pour obtenir de nombreuses données chimiques en négligeant l'aspect biolotique de cette investigation. Mais il faut reconnaître qu'il est généralement difficile de pouvoir réunir un nombre suffisant d'exemplaires de chaque plante et de disposer d'assez d'échantillons de divers organes pour en comparer les compositions chimiques.

Nous sommes conscients que ce travail n'est pas à l'abri de critiques, mais il nous aura permis de tracer des axes que nous nous proposons de suivre dans nos recherches ultérieures.

X
X X

Dans cette troisème partie de cette étude sur les Capparidaceae, il reste à dresser un inventaire des différents groupes chimiques rencontrés par nous-mêmes et d'autres auteurs. Il pourra s'en dégager des arguments pour définir les limites de cette famille sensu stricto selon HUTCHINSON (1967).

Substances étudiées	Nombre d'espèces explorées	Nombres d'espèces dans lesquelles ces substances ont été isolées
. hétérosides soufrés	37	37
. alcaloïdes	37	35
. acides phénols	7	7
. flavonoïdes	7	7
. proanthocyane	7	1
. acides aminés	7	7
. hydrocarbures	7	7
. alcools aliphatiques	7	7
. alcools triterpéniques	7	6
. stérols	7	7

FRACTION LIPOSOLUBLE DES CAPPARIDACEAE

L'étude de la fraction liposoluble qui contient notamment des stérols et des triterpènes a porté sur les écorces de tige et de tronc, organes les plus riches en ces substances. Nous n'avons pu mener cette étude que chez sept espèces correspondant à sept genres, ce qui, en regard des objectifs à atteindre, était notoirement insuffisant. Malheureusement en effet, pour obtenir une quantité suffisante de produits à analyser, il nous fallait partir d'au moins 500 g d'écorce sèche, matériel difficile à obtenir dans tous les cas. Cette limitation de l'enquête devait restreindre la portée des conclusions qu'on en pouvait tirer.

Toutefois, ces recherches ont permis de compléter la connaissance encore très parcellaire des substances liposolubles des Capparidaceae. Nous avons ainsi retrouvé la présence du lupéol dans Buchholzia coriacea Engl., Euadenia trifoliolata Oliv., Euadenia eminens Hook., Ritchiea capparoides Britt., Capparis biloba Hutch. et Dalz., Maerua angolensis DC., lupéol qui avait été isolé par d'autres auteurs dans le genre Crateva (BOITEAU, PASICH et RAKOTO RATSIMAMANGA, 1964). Dans les espèces que nous avons étudiées, cet alcool est accompagné d'autres alcools triterpéniques : α amyrine chez Capparis biloba Hutch. et Dalz., de taraxastérol chez Ritchiea capparoïdes Britten., α amyrine et β amyrine chez Euadenia trifoliolata Oliv. et Euadenia eminens Hook. Si l'enquête avait été plus largement menée, on serait

tenté d'assigner au lupéol la valeur d'un critère taxinomique, en notant qu'il fait défaut chez Boscia senegalensis Lam.

Par contre, les hydrocarbures méritent peut-être un intérêt particulier. Tout d'abord la longueur de la chaîne varie énormément de C_9 à C_{33}, avec un nombre pair ou impair d'atomes de carbone. D'autre part, la répartition de ces hydrocarbures est très variable selon les espèces. Certaines d'entre elles collectionnant tous les termes de la série, les autres n'en possédant que quelques uns. On est donc frappé à ce point de vue par l'absence de certains termes de la gamme, absence qui se retrouve chez Buchholzia coriacea Engl., Euadenia trifoliolata Oliv., Ritchiea capparoïdes Britt. et Maerua angolensis DC. Enfin la présence de chaînes très courtes (C_9 à C_{14}) n'est notée que chez Buchholzia coriacea Engl. et Euadenia trifoliolata Oliv. N'est-il pas possible de relier ces observations aux caractéristiques biogéographiques des plantes examinées ? Les deux espèces citées appartiennent à la forêt dense tandis que les cinq autres, Cadaba farinosa Forsk., Boscia madagascariensis Moust., Capparis biloba Hutch. et Dalz., Ritchiea capparoïdes Britten, Maerua angolensis DC. se retrouvent dans les formations tropophiles.

Ces constituants mineurs que sont les hydrocarbures pourraient-ils être un caractère lié à la vie de la plante dans un biotope déterminé ? Déjà ERTDMAN (1967) écrivait que la complexité des hydrocarbures pourrait constituer des "empreintes digitales" en taxinomie moléculaire.

POLYPHENOLS DES CAPPARIDACEAE

La recherche des acides-phénols et des flavonoïdes n'a pu porter que sur les feuilles des sept espèces précédemment explorées quant à leur contenu en composés liposolubles. Les résultats peu significatifs tirés de l'étude des acides phénols nous amènent à regretter de n'avoir pu disposer d'un matériel assez diversifié pour explorer toutes les espèces de Capparidaceae selon l'exemple de BATE-SMITH (1962) qui passait en revue, à l'aide d'un procédé simple de chromatographie, un très grand nombre de plantes.

Pour notre part, il nous semble souhaitable de nous efforcer chaque fois que possible d'isoler les substances plutôt que de nous contenter d'une simple caractérisation par chromatographie. D'autre part, il eût fallu appliquer systématiquement le procédé d'étude à un même type d'organe. Peut-être aurions-nous pu rechercher ces acides phénols dans le bois de tige et de racine en nous référant à un travail préliminaire de HOTELLIER et DELAVEAU (1970) qui observaient la présence de ces polyphénols dans la sève de diverses plantes. Mais c'est aux feuilles que nous nous sommes adressé, car ce sont des organes riches en polyphénols et que nous avons utilisées comparativement pour d'autres recherches.

Les acides phénols rencontrés sont :

- série benzoïque : acides p-hydroxy benzoïque, syringique et vanillique.

- série cinnamique : acides p-coumarique et férulique.

Seul l'acide férulique est constamment présent dans les sept espèces étudiées. Ce dérivé en C_6C_3 est peut-être un critère biochimique intéressant pour la systématique des Capparidaceae comme l'acide sinapique l'est pour les Cruciferaeae.

En effet, il nous avait paru capital de rechercher différents types de molécule et nous n'avons pas porté un intérêt plus spécial aux flavonoïdes. Au cours des recherches préliminaires, nous avons été déçu de rencontrer des flavonoïdes en faible quantité dans la plupart des espèces examinées ; d'autre part, nous avons suivi la méthode classique de BATE-SMITH qui fait explorer dans un premier temps les génines sans se préoccuper de la copule glucidique. Nous avons pu caractériser ainsi dans toutes les espèces, un flavonol très banal dans le règne végétal, le quercétol, parfois accompagné de rhamnétol et d'isorhamnétol.

L'inventaire des hétérosides flavoniques n'a été qu'à peine ébauché ; mais dans Boscia senegalensis Lam. et Maerua angolensis DC., nous avons retrouvé le rutoside qui avait été déjà séparé de quelques Capparidaceae.

Quant aux proanthocyanes dont aucun travail antérieur ne faisait mention, nous en avons isolé trois dans les divers organes de Buchholzia coriacea Engl. où ils sont très abondants. Leur présence dans cette seule espèce souligne l'originalité de sa composition chimique.

Un ne peut s'empêcher de rappeler que dans sa "Chemotaxonomie" HEGNAUER (1964) considérait l'absence ou la présence de proanthocyanes comme caractéristique respectivement des Capparidaceae et des Moringaceae.

HETEROSIDES SOUFRES DES CAPPARIDACEAE

En considérant les tableaux XXXI il apparaît clairement que la présence d'hétérosides soufrés est un caractère majeur des Capparidaceae.

En effet, les différentes observations qui ont été faites antérieurement ont démontré la présence d'hétérosides soufrés dans onze familles des Angiospermes Dicotylédones : Capparidaceae, Caricaceae, Crucifereae, Euphorbiaceae, Gyrostemonaceae, Limnanthaceae, Moringaceae, Resedaceae, Salvadoraceae et Tovariaceae.

En se basant sur les classifications figurant dans "Die natürliche Pflanzenfamilien", la seule grande famille dont toutes les espèces contiennent des hétérosides soufrés est celle des Crucifereae (KJAER, 1960) tandis que chez les Euphorbiaceae ces substances n'ont été identifiées que dans deux espèces (KJAER et FRIIS, 1962).

Par contre, chez les Capparidaceae, sensu lato selon PAX et HOFFMANN (1936), la sous-famille des Pentadiplandroïdeae et la tribu des Koeberliniae paraissaient dépourvues d'hétérosides soufrés aussi bien que de cellules à myrosinase.

Chez les autres familles ci-dessus mentionnées qui ne comprennent chacune que 1 à 6 genres, la présence

des hétérosides soufrés n'est pas évidente dans toutes les espèces à part les Resedaceae et les Tovariaceae (PATEL, IYER, SUDBOROUGH et WATSON, 1926 ; BOTTOMLEY et WHITE, 1950 ; ETTLINGER et HODGKIN, 1956 ; KJAER et RUBINTEIN, 1953 ; MILLER, DAXENBICHLER, EARLE et GENTRY, 1964 ; KURUP et RAO, 1954 ; BADGETT, 1964 ; SCHRAUDOLF, 1965).

Parmi toutes les familles à hétérosides soufrés, cinq appartiennent à l'ordre des Rhoeadales, les autres sont diversement réparties dans le règne végétal (Pariétales, Tricoques, Géraniales, Celastrales, etc.).

D'autre part, toutes les familles de l'ordre des Rhoeadales ne contiennent pas d'hétérosides soufrés. C'est ainsi que les Papaveraceae et les Fumuriaceae sont caractérisées chimiquement par des alcaloïdes de structure isoquinoléique, ce qui explique leur récente affiliation à l'ordre des Berbéridales. De plus en 1967, MERXMÜLLER et LEINS s'appuyant sur des données chimiques et des critères sérologiques, paléontologiques et embryologiques ont confirmé le bien fondé de la scission de cet ordre des Rhoeadales en Papavérales et Capparidales.

L'ordre des Capparidales formé par HUTCHINSON (1959, 1964) comprenant Capparidaceae, Moringaceae et Tovariaceae regroupe précisément trois familles à hétérosides soufrés. La première est caractérisée par la glucocapparine, la seconde par la glucotropaeoline et

la troisième par l'isopropyl-glucosinolate et les hétérosides soufrés indoliques : glucobrassicine et néoglucobrassicine (AHMED et alii, 1972, SCHRAUDOLF, 1965 ; KJAER , 1967 ; KURUP et RAO, 1954 ; BADGETT, 1964).

Dans son récent remaniement de 1969, HUTCHINSON ne voit plus dans l'ordre des Capparidales que deux familles, les Capparidaceae et les Moringaceae. A ce niveau de l'analyse, le seul lien commun est la présence des hétérosides soufrés. Par conséquent, elles pourraient être plus ou moins affiliées au Crucifereae, Tovariaceae et Resedaceae.

Au sein même de la famille des Capparidaceae, nous remarquons que les différents remaniements tendent à ne considérer comme Capparidaceae que les genres et les espèces que nous constatons posséder des hétérosides soufrés. Ainsi, par la présence de la glucocapparine, les deux nouvelles familles provenant de la scission des Capparidaceae sensu lato selon PAX et HOFFMANN (1936) c'est-à-dire les Cleomaceae (PAX) AIRY SHAW et les Capparidaceae Juss., ultérieurement révisées par AIRY SHAW, 1966, et par HUTCHINSON, 1967, possèderaient une grande affinité entre elles.

A notre connaissance, la glucocapparine n'a été retrouvée que dans une seule espèce de Crucifereae : Matthiola tristis (L) R. BR. (MATAS L. C., 1960).

De son côté, par ses recherches chimiques, SCHRAUDOLF (1965) estimait que la présence d'un des deux glucosides soufrés indoliques, glucobrassicine et néobrassicine, caractérisait la sous-famille des Cleomoideae devenue actuellement la famille des Cleomaceae.

ALCALOIDES DES CAPPARIDACEAE

A la suite de cette étude chimique, nous avons presque toujours mis en évidence dans les Capparidaceae la présence d'alcaloïdes de structure pyrrolidique ; soit de la L-stachydrine, soit l'hydroxy-3 L-stachydrine, soit ces deux bases ensemble.

Dans les Angiospermes Dicotylédones, on retrouve la L-stachydrine dans les Compositae, Labiatae, Leguminosae, Rutaceae, Verbenaceae (YOSCHIMURA et TRIER, 1912, 1913, 1914 ; SCHYLZE et TRIER, 1911 ; AKNOW, KONOWALOW et MANSUROW, 1958, 1959 ; OGINO, 1955, 1959 ; Van EIJK, 1952, 1954 ; STEENBOCK, 1918, 1919 ; LIM, 1935, 1936 ; KLEIN et LINSER, 1932 ; PLANTA et SHULZE, 1893 ; HUNG, 1959 ; AKERMANN, HOLTZ et REINWEIN, 1924 ; KUTSCHER et ACKERMANN, 1933) et l'hydroxy-3 L-stachydrine chez les Compositae, Léguminosae et Labiatae (SCHULZE et TRIER, 1911 ; MILLER et CHOW, 1954 ; PAILER et KUMP, 1959 ; ACKERMANN et alii, 1939). Mais cette structure pyrrolidique ne se retrouve pas dans toutes les espèces des familles ci-dessus mentionnées. De plus dans aucune de ces familles, on ne retrouve la coexistence de ces alcaloïdiques pyrrolidiques avec des hétérosides soufrés. Cette coexistence est vérifiée encore davantage si l'on considère la famille des Capparidaceae sensu stricto selon HUTCHINSON (1967).

Ainsi donc, en remontant à l'ordre des Capparidales qu'a établi HUTCHINSON en 1959, nous remarquons que ce singularisent deux familles à hétérosides soufrés et à alcaloïdes : les Capparidaceae et les Moringaceae, et une famille renfermant uniquement des hétérosides soufrés : les Tovariaceae.

En réalité, ces trois familles groupent des espèces à caractèresassez divergents et, non satisfait de ce classement, HUTCHINSON a été conduit en 1969 à un nouveau remaniement. Cet auteur élimine les Tovariaceae et seules restent groupées ensemble dans l'ordre des Capparidales les Capparidaceae sensu stricto et les Moringaceae.

Il nous paraît que les recherches biochimiques obtenues au cours de ce travail apportent une confirmation utile au bien fondé de l'interprétation de HUTCHINSON.

De plus, si on ne considère pas la seule présence des hétérosides soufrés mais la nature même de ceux-ci, on constate que la présence de glucocapparine est un caractère constant ; de même le sont aussi la L-stachydrine et l'hydroxy-3 L-stahcydrine sauf dans le cas de Buchholzia coriacea Engl., Euadenia trifoliolata Oliv. et Euadenia eminens Hook.

ACIDES AMINES

Nous ne les avons étudiés que de façon comparative dans les feuilles correctement récoltées et séchées par nous-même ; il s'agit donc des sept espèces déjà citées.

Les mêmes acides aminés, au nombre de 19, sont retrouvés dans les 7 espèces, mais leur teneur y est très différente. Peut-être s'agit-il là d'une constatation importante à relier à des considérations physiologiques autant qu'écologiques. En effet, dans l'état actuel des connaissances, le métabolisme des alcaloïdes et celui des hétérosides soufrés paraissent dépendre de l'utilisation des acides aminés par la plante.

1) Acides aminés et alcaloïdes dans les Capparidaceae

En examinant le taux des différents acides aminés présents dans les plantes étudiées, on constate un pourcentage élevé en acides glutamique et γ-amino butyrique chez Buchholzia coriacea Engl. et Euadenia trifoliolata Oliv. Or ces deux plantes sont dépourvues d'alcaloïdes.

Si l'on considère la chaîne du métabolisme de la proline selon BUIT, 1965, l'acide glutamique apparaît comme le point de départ de la biosynthèse de cet acide aminé cyclique et l'acide γ-amino butyrique comme le terme de son catabolisme.

Une accumulation de ces deux acides aminés dans les plantes ne peut-elle être interprétée comme une perturbation dans les processus enzymatiques qui assurent normalement la biosynthèse de la proline et par conséquent des alcaloïdes pyrrolidiques ? Le déficit enzymatique peut lui-même trouver son origine dans des causes extrinsèques, en particulier des considérations écologiques, et intrinsèques, tenant au patrimoine génétique.

Si on examine les influences du milieu, la lumière apparaît comme un facteur limitant pour les plantes de la forêt dense. Les réactions chimiques influencées par la lumière seront modifiées. Déjà en 1959, MOTHES insistait sur les effets de la lumière et de la température sur les biosynthèses des alcaloïdes.

Or, précisément, les échantillons de Buchholzia coriacea Engl. et de Euadenia trifoliolata Oliv. examinés ici ont été récoltés dans la forêt du Banco, située sur les sables tertiaires au bord des lagunes d'Abidjan (ADJANOHOUN, 1971). La composition floristique de cette forêt se rapproche de celle de la forêt Semper-virente psammohygrophile. Cette localisation à laquelle ces deux espèces paraissent adaptées est fondamentalement différente de celle de la plupart des autres Capparidaceae, plantes des formations tropophiles.

Précisément, Buchholzia coriacea Engl. et Euadenia trifoliolata Oliv. font partie de la strate inférieure de la forêt dense ombrophile et subissent

intensément les effets du microclimat. Dans la forêt du Banco, la luminosité est très faible : au niveau de la strate inférieure l'éclairement est réduit à 1 % de celui de la cime.(PAULIAN, 1947).

Or le milieu intérieur d'une forêt dense s'individualise par sa haute humidité, les faibles écarts microclimatiques et la luminosité réduite (SCHNELL, 1971). Mais les facteurs extrinsèques examinés ici ne sont pas les seuls à intervenir chez Buchholzia coriacea et Euadenia trifoliolata Oliv. L'absence d'alcaloïdes ne peut-elle être rapportée plutôt à un déficit de l'équipement enzymatique d'origine génétique ? A l'appui de cette hypothèse peut-être produit un argument tiré de l'étude d'une espèce voisine, Euadenia eminens Hook. Croissant dans les savanes côtières sur podzols, cette espèce ne subit que très faiblement l'influence d'un microclimat. Or nos recherches personnelles n'ont pu mettre en évidence d'alcaloïdes dans aucun des organes examinés de cette dernière espèce.

Seules des recherches physiologiques ultérieures permettront de vérifier ces hypothèses

2) Acides aminés et hétérosides soufrés des Capparidaceae

D'après les rares travaux de biosynthèsé concernant les hétérosides soufrés, il semble que le soufre soit régulièrement apporté par la méthionine tandis que

les différentes chaînes dérivent de divers acides aminés, alanine pour la sinigroside, phenyl alanine pour la glucotropaeoline(CHISHOLM et WETTER, 1964).

X X
X

Ainsi sans pouvoir proposer de schéma biosynthétique certain, est-on frappé de constater chez les Capparidaceae la coexistence de deux voies menant aux alcaloïdes d'une part et aux hétérosides soufrés d'autre part dans lesquelles sont impliqués les acides aminés. Bien que ces notions ne soient encore réduites qu'à des suppositions, il semble que nous ayons avec les Capparidaceae un exemple de chimiotaxinomie où on ne doit pas considérer comme critères utilisables les seuls produits finaux, mais aussi les voies métaboliques qui conduisent à ces produits.

X X
X

En définitive, si l'on rassemble et compare les différentes substances isolées au cours de cette enquête chimiotaxinomique, seuls les alcaloïdes et les hétérosides soufrés paraissent devoir constituer des critères chimiques valables. Ils permettent de définir l'ordre des Capparidales selon HUTCHINSON (1969) et d'autre part la famille des Capparidaceae selon cet auteur (1967) :

ORDRE DES CAPPARIDALES
(HUTCHINSON, 1969)

Formé de Capparidaceae et Moringaceae, il est caractérisé par la présence constante d'alcaloïdes et d'hétérosides soufrés dans toutes les espèces.

FAMILLE DES CAPPARIDACEAE sensu Stricto
(HUTCHINSON, 1967)

Elle est caractérisée par la coexistence régulière d'alcaloïdes de structure pyrrolidique (L-stachydrine, hydroxy-3 L-stachydrine) et d'hétérosides soufrés, dont la glucocapparine est l'élément constant.

SILHOUETTE CHIMIQUE DES CAPPARIDACEAE ETUDIEES

F = Feuille ; E_R = écorce de racine ; E_T = écorce de tronc ;
T = tige ; G = graine.

AA^+ = Acides aminés (voir chapitre , Etude des acides aminés)

HS = Hétérosides soufrés
Gcp = glucocapparine ; Gcl = glucocléomine ;
Gib = glucoibérine ; Ggl = glucocapanguline ;
Gtp = glucotropaeoline ; Sg = sinigrine ;
Gchl = glucocochléarine ; Gptj = glucoputranjivine ;
Et = éthyl-glucosinolate ; Isopr. = isopropyl-glucosinolate ; Bu = butyl-glucosinolate ; Gbr = glucobrassicine ; Gnbr = gluconorbrassicine ; Sn = sinalbine.

Alc = Alcaloïde
Sta = L-stachydrine ; OHsta = hydroxy-3 L-stachydrine ;
OHT = hydroxy de tétraméthyl ammonium.

FL = Fraction liposoluble
Al. aliph. = alcool aliphatique ; Camp. = campestérol ;
Stig. = Stigmastérol ; Sito = sitostérol.

Flavonoïde
Q = quercétol
Rham. = Rhaménolt ; Isorham.= Isorhamnétol

* = Nos travaux personnels.

Boscia fischeri Pax

Er HS = Gcp

* Boscia madagascariensis Moust.

F = HS = Gcp

Alc = Sta ; OHsta

F.L.= Alcanes = C_{12} à C_{32}

* Boscia senegalensis Lam.

A.A = +

F = HS = Gcp

Alc = Sta ; OHsta

Flavonoïdes = Rutoside : Quercétol Rham; Isorham.

Ac. phénols = Acides féru., p.cou., syring., vanil.

T = HS = Gcp ; Isopr.

Alc = Sta ; OHsta

FL = Al. aliph. = C_{25} à C_{42}

Stérol = camp., stig., sito

Fr.= Gcp ; Isopr. ; Bu.

*Buchholzia coriacea Engl.

AA.+

F = HS = Gcp., Gcl., Gib., Gcgl

Ac. phénol = Acides féru., vanil., syring., protoca.

E_T = HS = Gcp ; Gcl ; Gib ; Gcgl ; Gbr, Gtp

Alc = néant

Proanthocyane : leucocyanidine, leucopelargonidine, leucoapigénidine.

FP = Alcanes = C_9 à C_{16}

Trit = Lupéol

stérol = camp. stig ; sito.

*Cadaba farinosa Forsk.

F = AA^+

HS = Gcp

Alc = sta ; OHsta

Acides phénols ; Féru. , Syring. ; Vanil.

Flavonoïdes = Q.

T = HS = Gcp

Alc = sta ; OHsta

FL = Alcane = C_{14} à C_{33}

Alcools aliph. = C_{22} à C_{24}

*Capparis albitrunca Burch.

F = HS = Gcp

Alc = Sta

*Capparis assamica Hook.

F = HS = Gcp ; Gib

Alc = Sta

Capparis baducca L.

F = HS = Gcp

Alc = sta

*Capparis biloba Hutch. et Dalz.

AA^+

F = HS = Gcp ; Gcl ; Gib ; Gcgl ; Gbr ; Gtp ; Sg

Alc = Sta ; OHsta

Ac. phénols = Ac. féru, vanil., syring ;
p. cou.
Flavonoïdes = Q.

T = HS = Gcp ; Gcl ; Gib : Gcgl, Gbr ; Gtp ; Sg.
Alc = Sta ; OHsta
FL = Alcanes : C_{12} à C_{32}
Alc. aliph. = C_{32} C_{34}
Triterpéne = Lupéol ; amyrine
Stérols = Camp. Stig ; sito

Capparis cartilaginea DC.

E_T = HS = Gptj ; Gchl.

*Capparis corymbosa

F = HS = Gcp, Gcl,
Alc : Stach.
E_R = HS = Gcp ; Gcl ; Et.
Alc = Sta.

Capparis decidua Edgew

E_R = FL = Alcane : C_{25} ; C_{30}
Alcool aliphatique : C_{30}
Stérol : sito
Alc = Sta
Gr = Alcane = C_{25}
Alcool aliphatique : C_{30}
stérol = sito
Fruit + graine :
Alc = L-stachydrine - choline
HS = Gcp.

*Capparis erythrocarpos Isert.

F = HS = Gcp ; Gcl ; Gib

Alc = Sta ; OHsta

* Capparis flavicans Kurz.

F = HS = Gcp

Alc = Sta

Capparis Flexuosa L.

HS = Gcp ; Bgl.

Capparis ferruginea Willd.

F =

Capparis galeata Fresc.

E_T, F= HS = Gcp ; Gcl.

Capparis hastata Jacq.

F = HS = Gcp.

Capparis inermis Forsk.

G = HS = Gcp

Capparis linearis Jacq.

F = HS = Méthyl-3 butenyl-3 glucosinolate

*Capparis micracantha DC.

F = HS = Gcp

Alc = Sta

Capparis mitchellii Lindl.

F = HS = Gcp ; Gtp.

Capparis moonii Wight

Fruit = Alc = Sta.

Capparis nobilis F.

F = HS = Gcp

Capparis odoratissima Jacq.

F = HS = Gcp

Capparis ovalifolia Ruiz et Pav.

G = HS = Gcp

Capparis ovata var. palestina Zoh.

T = HS = Gcp, Gcl, HObut., Pgr. Gib, Gcp ; Gbr.

*Capparis pentaphylla

F = HS = Gcp ; Gcl.

Alc = Sta

*Capparis pyrifolia Lam

F = HS = Gcp

Alc = Sta ; OHsta

Capparis quinifolia DC.

F = HS = Gcp

Capparis rupestris Sibth. et Sm

F = HS = Gcp

Capparis salicifolia Griseb.

G = HS = Ccp.

•Capparis sepiaria Wall.

F = HS = Gcp

Alc = Sta ; HOsta

FL = sito

Capparis sola L.

ALC = HOT

Capparis spinosa L.

G.F.= HS = Gcp ; Gcl

Capparis spinosa var. aegyptia (Lam) Boiss.

T = HS = Gcp ; Gcl ; Sg ; Gib.

Capparis spinosa var. deserti Zoh.

T = HS = Gcp ; Gcl ; Sg ; Gib ; Gbr

•Capparis tomentosa Lam.

F = HS = Gcp ; Gcl

Alc = Sta

Fruit = Alc = Sta

Capparis tuerckheimii Down. Smith.

G = HS = Gcp.

* Capparis tweediana Eichl.

E_R = HS = Gcp

Alc : OHsta

* Capparis urophylla

F = HS = Gcp

Alc = OHsta

* Capparis zeylanica L.

F = HS = Gcp

Alc = Sta

* Cladostemon paradoxus

F = HS = Gcp

Alc = Sta

Courbonia pseudophylla Gilg et Ben.

R = Alc = OHT

Courbonia virgata A. Brongn.

F, G, E_T, E_R = Alc = OHT

E_R = Dimethylammonium

OHT ; Sta (ester éthylique)

G = OHsta

* Crateva adansonii DC.

F = HS = Gcp

Alc = sta

* Crateva erythrocarpa Gagnep.

F : Hs = Gcp

Alc.= Sta

* Crateva graveana Baill.

F = HS = Gcp ; Gcl

Alc = Sta

*Crateva nurvala Buch.

F = HS = Gcp

Alc = Sta

Crateva roxburghii R. Br.

F, E_R = HS = Gcp ; Gcl.

Crateva tapia L.

G = HS = Gcp

*Euadenia eminens Hook.

F = HS = Gcp ; Gcl ; Cib ; Gcgl.

* Euadenia trifoliolata Oliv.

AA^+

F = HS = Gcp, Gcl ; Gib, Gcp

FL = Alcane C_9 à C_{14}

Triterpène : lupéol, amyrine, amyrine

Stérol : cholestérol, camp, stÿg. et sito

Acides phénols : Ac. vanil, féru,, syring.

Maerua aethiopica (Fenz) Oliv.

E, R, F = HS = Gcp

* Maerua angolensis DC

F = AA^+

HS = Gcp

Alc = Sta ; Ohsta

FL = Alcane C_{13} à C_{18}

Al. Aliph. C_{26}, C_{36}, C_{38}

Triterpène : Lupéol

Stérol : camp., styg et sito

Maerua hochnellii Schweinf

E, R,F = HS = Gcp

* Maerua ovalifolia Cambess.

E_R = HS = Gcp

Alc = Sta ; OHsta

*Morisonia americana L

F = HS = Gcp ; Gcl ; Sg

Alc = OHsta

*Neothorelia laotica Gagnep.

F = HS = Gcp ;

Alc = Sta

*Poilanedora unijuga Gagnep.

F = HS = Gcp, Gcl.

Alc = OHsta

Ritchiea albersii Gilg.

E_T, R = HS = Gcp

*Ritchiea capparoïdes Britt.

F = AA^+

HS = Gcp, Gcl

Alc = Sta

Polyphénol

FL = Alcane : C_9 à C_{16}

Al. aliph. : C_{36}

Al. triterpénique : lupéol, taraxastérol

Stérol : camp., styg, sito

Ritchiea fragariodora

E_R = Alc = choline

Autres substances : saccharose.

* Ritchiea reflexa Gilg.

F = HS = Gcp

Alc = Sta

* Steriphoma paradoxum Endl.

F = HS = Gcp, Gcl

Alc = Sta ; OHsta

* Stixis obtusifolia Baill.

F = HS = Gcp

Alc = Sta

* Stixis scandens Lour.

F = HS = Gcp

Alc = Sta

* Stixis suaveolens Roxb.

F = HS = Gcp

Alc = Sta

* Thylachium africanum Lour.

F = HS = Gcp

Alc = Sta ; OHsta

Thylachium thomasii Gilg.

E, R,F = HS = Gcp

* Tirania purperea Pierre

F = HS = Gcp

Alc = Sta ; OHsta

Références

AHMED, RIZK, HAMMOUDA et SEIF EL-NASR (1972) ; CAVE et PARIS (1972) ; KJAER (1960) ; KJÆR et THOMSEN (1963) ; KOUDOGBO, DELAVEAU et ADJANOHOUN (1972) ; KJAER, SCHUSTER, DELAVEAU et KOUDOGBO (1973) ; KOUDOGBO, DELAVEAU et POUSSET (1973).

DISCUSSION

A notre connaissance, les Capparidaceae et les Moringaceae sont les seules dans le règne végétal à pouvoir synthétiser simultanément à partir des acides aminés les alcaloïdes et les hétérosides soufrés.

Ces deux familles réunies dans l'ordre des Capparidales par HUTCHINSON en 1969 sont nettement distinctes. Les Capparidaceae sont caractérisées par la présence d'alcaloïdes de structure pyrrolidique et celle de la glucocapparine tandis que les Moringaceae le sont par le benzylamine et la glucotropaeoline.

Cette définition des Capparidaceae pose actuellement le problème de l'appartenance à cette famille des trois espèces : Buchholzia coriacea Engl., Euadenia trifoliolata Oliv., Euadenia eminens Hook. Il est évident qu'avant de proposer un système plus avancé de classification, il faudrait compléter l'étude des deux genres : Buchholzia et Euadenia dont respectivement 4 et 3 espèces n'ont encore fait l'objet d'aucune investigation. Toutefois, Buchholzia macrophylla Mart. paraît lui aussi dépourvu d'alcaloïdes (BOUQUET, 1971).

Mais le présent travail n'a pu examiner que 38 espèces appartenant à 16 genres sur un ensemble de 30 genres et 440 espèces. Ce n'est qu'après une exploration complète de toutes les espèces réunies dans la famille des Capparidaceae (1967) que pourra être proposée une véritable chimiotaxinomie de cette famille concue par HUTCHINSON en 1967.

CONCLUSION GENERALE

La famille des Capparidaceae, essentiellement pantropicale, fut créée en 1789 par B. de JUSSIEU. Cet auteur y avait placé, non seulement les véritables Capparidaceae mais aussi d'autres genres chez lesquels des hétérosides soufrés ont été, par la suite, mis en évidence. Plusieurs auteurs après B. de JUSSIEU ont essayé d'ajouter ou d'en retirer des genres marginaux afin de créer une famille homogène mais leur tentative ne fait que souligner l'hétérogénéité de cette famille.

En effet, la famille des Capparidaceae sensu lato, très hétérogène au point de vue morphologique, (formes herbacées et ligneuses) l'est aussi quand on envisage l'appareil floral, surtout au niveau de l'androcée (le nombre d'étamines, 4 au minimum, est très variable).

Cette hétérogénéité devait conduire plusieurs taxinomistes à des remaniements dont le premier en date fut celui de PAX et HOFFMANN en 1936. Ces auteurs distinguèrent une centaine d'espèces groupées en 48 genres et réparties dans 8 sous-familles. Plus récemment AIRY SHAW (1966) scinda les Capparidaceae de 1936 en 4 familles : Capparidaceae, Cleomaceae, Emblingiaceae, Pentadiplandraceae. Selon ce taxinomiste, ne seront plus considérés comme Capparidaceae

que les 4 sous-familles, parmi les 8 de PAX et HOFFMANN, Capparidaceae, Podandrogynoideae, Dipterygioideae, Buhsioideae qui rassemblent 650 espèces réparties en 30 genres.

En 1967, cette classification est reprise par HUTCHINSON qui supprime de la famille des Capparidaceae de 1936 les sous-familles des Pentadiplandroideae, Podandrogynoïdeae, Dipterygioïdeae, Calyptrothecoïdeae, Cleomoideae et la tribu des Koeberlinieae. Avec ce dernier systématicien, les Capparidaceae comptent toujours 30 genres mais 440 espèces seulement.

Devant les efforts réitérés des Taxinomistes qui se sont fondés essentiellement sur les caractères morphologiques, il nous a paru utile, en nous reposant sur la classification de HUTCHINSON, de rechercher des molécules pouvant servir de critères chimiques pour les systématiciens.

I - Le matériel botanique utilisé ressortit à trois catégories :

. a) les plantes que nous avons nous-même récoltées au cours d'une enquête ethnobotanique en Afrique (juin-juillet 1971),

. b) les plantes qui nous ont été adressées en quantité importante par des Universités et des Centres de Recherche,

. c) les échantillons fournis à partir des collections : Museum National d'Histoire Naturelle, Herbarium de Kew, Jardin botanique de Dijon,

ne correspondant qu'à des quantités faibles de plantes.

La variété des échantillons botaniques nous a conduit à un certain nombre de considérations :

1) La nécessité de faire soi-même des enquêtes ethnobotaniques pour mieux connaître la biogéographie des différentes plantes sur lesquelles porteront des travaux chimiques.

2) Les échantillons d'herbiers ne peuvent pas constituer un matériel d'étude valable en raison, d'une part de la trop faible quantité que les centres de collections peuvent mettre à notre disposition, d'autre part du vieillissement des échantillons et du mode de leur conservation qui ne nous mettent pas à l'abri des phénomènes de transformations chimiques qui pourraient se produire.

II - Les méthodes chimiques d'isolement et d'identification sont donc variées et doivent s'adapter à la quantité de chaque plante en notre possession.

Nous nous sommes intéressé à des substances ayant des voies biogénétiques différentes. A part les

acides aminés, ce sont pour la plupart des produits du métabolisme secondaire. C'est ainsi que nous avons pu identifier, ou le plus souvent isoler, les molécules suivantes :

1) Fraction liposoluble

Etude faite sur 7 espèces (7 genres)

n-alcanes, de C_9 à C_{33}

Alcools aliphatiques, de C_{20} à C_{42}

Alcools triterpéniques : lupéol, α amyrine, β amyrine, taraxastérol

Stérols : cholestérol, campestérol, stigmastérol, β sitostérol.

2) Polyphénols

Acides phénols : Acides férulique, p-coumarique, p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, syringique, vanillique.

7 espèces (7 genres)

Proanthocyanes : leucocyanidine, leucoapigénidine, leucopélargonidine.

Flavonoïdes

a) Génine (7 espèces - 7 genres)
quercétol dans toutes les espèces étudiées,
rhamnétol et isorhamnétol dans quelques unes

b) hétérosides : rutoside isolé dans 2 espèces (2 genres).

Acides aminés : glycine, alanine ; valine, leucine, isoleucine ; sérine, thréonine ; lysine, arginine ; acides aspartique et glutamique ; cystine ; glutamine, asparagine ; phénylalanine, tyrosine ; histidine ; acide ɣ amino-butyrique.
7 espèces
(7 genres)

Alcaloïdes : L-stachydrine, hydroxy-3 L-stachydrine, hydroxy de tétraméthyl ammonium, choline.
37 espèces
(16 genres)

Hétérosides soufrés : Glucocapparine, glucocléomine, glucoibérine, glucocapanguline, sinigrine, glucotropaeoline, glucobrassicine, isopropyl-glucosinolate, propyl-glucosinolate, butyl glucosinolate et éthyl glucosinolate.
38 espèces
(16 genres)

Le nombre assez élevé de susbtances chimiques isolées au cours de ce travail s'ajoutant à la liste de celles qu'ont déjà reconnues d'autres auteurs permet d'établir des critères chimiques pouvant individualiser cette famille des Capparidaceae conçue par HUTCHINSON (1967).

Pour aider les botanistes en vue d'une mailleure connaissance de la famille des Capparidaceae a été dressée une silhouette chimique de chacune des espèces étudiées par les autres auteurs et par nous mêmes.

A la lueur des informations obtenues sur un total de 70 espèces, il apparaît que les alcaloïdes et les

hétérosides soufrés pourraient constituer des critères taxinomiques valables. Sur toutes les espèces étudiées, nous avons toujours retrouvé des hétérosides soufrés et dans 3 espèces seulement, nous avons noté l'absence d'alcaloïdes.

Ces études ont porté sur 16 genres de cette famille des Capparidaceae de 1967, ce qui représente plus de la moitié des genres qui la constituent. Toutefois, nous regrettons de ne pas pu avoir l'un des deux genres de la tribu des Apophylleae. Nous avons cependant énoncé, en nous fondant seulement sur tous les travaux effectués sur cette famille, les définitions suivantes :

1) Ordre des Capparidales, selon HUTCHINSON (1969), formé de Capparidaceae et Moringaceae, se caractérise par la coexistence dans une même plante d'alcaloïdes et d'hétérosides soufrés.

2) Famille des Capparidaceae (selon HUTCHINSON, 1967), s'individualise par les alcaloïdes de structure pyrrolidique et des hétérosides soufrés dont la glucocapparine apparaît comme le terme constant de ce groupe.

Mais le nombre insuffisant d'espèces étudiées au niveau des autres substances ne nous permet pas d'aller plus loin dans cet essai de chimiotaxinomie.

Nous ne nous dissimulons pas les imperfections de cette enquête : axée au départ sur l'unique famille des

Capparidaceae (HUTCHINSON, 1967), elle aurait dû en fait également porter sur les Capparidaceae selon PAX et HOFFMANN (1936) et AIRY SHAW (1966). Ce n'est que par une patiente recherche qu'il serait possible de consolider sur des bases scientifiques les deux définitions énoncées plus haut. Or, la silhouette chimique des deux espèces d'Euadenia et plus encore du Buchholzia coriacea commence déjà à restreindre la portée de notre conclusion.

En réalité, le cas de ces trois espèces (Euadenia trifoliolata Oliv. ; Euadenia eminens Hook. ; Buchholzia coriacea Engl.) mérite sans doute d'être examiné à la lumière de leur écologie et de leur patrimoine génétique.

Il est bien entendu trop tôt pour mettre en doute la classification de HUTCHINSON, mais on est en droit de penser qu'elle mériterait encore certaines transformations.

On peut se demander si, tout en continuant d'accorder aux caractères morphologiques la primauté qui leur revient, il ne serait pas nécessaire de réunir d'autres caractères : écologiques, biochimiques, cytologiques, sérologiques. De la sorte, une révision taxinomique demanderait la formation d'une équipe de spécialistes de ces différentes disciplines.

Si ce travail n'a pas permis de porter un jugement définitif sur le bien-fondé des différents remaniements intervenus dans la systématique des Capparidaceae, il aurait toutefois contribué à étendre la connaissance chimique à un nombre assez élevé d'espèces, et l'expérience acquise nous sera d'un grand secours pour la continuation des recherches sur les plantes tropicales.

BIBLIOGRAPHIE

ADANSON M. 1763
Familles des plantes, Tome 2, p. 402-408, Paris

ADJANOHOUN E. 1963
Végétation des savanes et des rochers découverts en Côte d'Ivoire centrale, Thèse Sc. Nat., Paris, Centre Orsay

ADJANOHOUN E. 1962
Etude phytosociologique des savanes de basse Côte d'Ivoire (savanes lagunaires), Vegatatio, 11, 1-38

AHMED Z. F., RIZK A.M., HAMMOUDA F.M. et SEIF EL-NASR M.M. 1972
Glucosinolates of Egyptian capparis species, Phytochem, 2, 251-256

AHMED F.Z., RIZK A.M., HAMMOUDA F.M. et SEIFEL-NASR M.M. 1972
Naturally Occurring glucosinolates with spécial reference to those of familly Capparidaceae, Planta medica, 21, 35-60

AIRY SHAW 1965
Diagnoses of new families, new names, etc, for the seventh edition of Willis's Dictionary, Kew Bull, 18, 256-257

AIRY SHAW 1966
in WILLIS J. C.
A Dictionary of the Flowering Plants and Ferns, seventh Ed., University Press Cambridge, 194-195

ALSTON R. E. et TURNER B. L. 1966
Biochemical systematics, Prentice Hall, N-Y

AMES T. R., HALSALL T. G. et JONES E. R. H. 1951
Elucidation of the structure of lupeol, J. Chem. Soc. 450-457

Von ARX E. et NEHER R. 1963
Eine multidimensionale Technik sur Chromatographischen Identifizierung von Aminosaüren, J. Chromatog, 12, 329-335

ASTWOOD E., GREER A. et ETTLINGER 1949
L-5-Vinyl-2-Thiooxazolidone, an antithyroid compound from yellow turnip and from brassica seeds, J. Biol. chem., 181, 121-130

AUBREVILLE A. 1936
La flore forestière de la Côte d'Ivoire, Tome I, Larosse Ed., Paris

BAILLON H. 1872
Histoire des plantes, Tome III, Hachette Ed., Paris

BARTON O. H. R. et HOLMES N. J. 1951
Some relative configurations in Rings C, D and E of the amyrin and the lupeol group of triterpenoids, J. Chem. Soc, 78-92

BATE-SMITH E. C. 1954
Detection and identification of anthocyanidins formed from leuco-anthocyanins in plant tissues, Biochem. J., 58, 122-125

BENKERT K. 1966
Über vorkommen und Nachweis pflanzlicher senfölglucoside, Naturwisseschaften, 53, 200

BENTHAM G. et HOOKER J. D. 1862
Capparideae, Gen. Pl., 1, 103-110

BILLINGS F. H. 1937
Some new features in the reproductive cytology of Angiosperms, illustrated by Isomeris arborea, New Phytol., 36, 301-326

BLAGOVESCSENSKI A. V. 1950
A növények evolúciós folyamatainak biokémiai alapjai (Biochemical bases for the evolution process of plants) Akadémiai Kiadó, Badapest

BOIT H. G. 1961
Ergelenisse der Alkaloid chemie bis 1960, Akademic-Verlag, Berlin, 50-55

BOITEAU P., PASICH B. et RAKOTORATSIMAMANGA 1964
Les Triterpénoïdes en physiologie végétale et animale, Ed. Gauthier-Villars.

BRACHET J. et PARIS R. R. 1970
Sur les proanthocyanes de Calluna vulgaris L., Phytochem, 9, 435-439

BRIQUET J. 1913
La déhiscence des calices capsulaires chez les Capparidacées, Anch. Sci. Phys. Nat. IV, 36, 534-548

BRIQUET J. 1914
Sur l'organisation et les affinités des Capparidacées à fruits vésiculeux, Bot. Jahrb. (suppl.) 435-448

CAMP W. H. 1950
Plant geography in Gunderson. A family of Dicotyledon, Chronica Bot. Waltham, 26

de CANDOLLE 1824
Prodromus systematis naturalis regnis vegetabilis, Argentorati et Londini, 237-254

de CANDOLLE A. P. 1804
Essai sur les propriétés médicales des plantes, comparées avec leurs formes extérieures et leur classification naturelle, Paris (1ère Ed 1804 ; 2ème Ed. 1816)

de CANDOLLE A. P. 1872
Tentative d'expériences sur la question de modification dans les espèces végétales, Arch. Sci., Genève

CAVE A. et PARIS R. 1972
Sur une Capparidaceae du Congo, le Ritchiea fragariodora Gilg., Pl. med. et Phyto., VI, 66-67

CORNFORTH J. W. et HENRY J. 1952
The presence of cis-and trans-3-Hydroxystachydrine in the fruit of Courbonia virgata, J. Chem. Soc., 597-601

CORNFORTH J. W. et HENRY A. J. 1952
The isolation of L-stachydrine from the fruit of Capparis tomentosa, J. Chem. Soc., 601-603

CRISTIANI L. O. 1961
Anatomia del leno secundario de las Capparidaceas argentinas, Revista Inst. Municipal Bot. Buenos Aires, 1, 39-55

DALGLEISH C. E., HORNING E. C., HORNING M. G., KNOSE K. L. et YARGER K. 1966
A Gas-liquid chromatographie procedure for separating a wide range of metabolites occuring in urine or tissus extracts, Biochem. J., 101, 792-796

DANIELAK R. et BORKOWSKI B. 1969
A new method of isolation of the Glucosynolate complex from seeds of Crucifers (Cruciferеae), Dissert. Pham. Pharmacol., 21, 577-579

DATTA et MITRA 1947
Systematic position of Moringaceae, J. Bombay Nat. Hist. Soc., 47, 335-358

DAVY G. S., HALSALL T. G. et JONES E. R. H. 1951
The and amyrines, J. Chem. Soc., 458-461

DAXENBICHLER M. E., VANETTEN C. H. et WOLFF 1965
A new Thioglucoside, (R)-2 hydroxy-3-butenyl glucosinolate from Crambe abyssinica Seed, Biochem., 4, 318-323

DAXENBICHLER M. E., VANETTEN C. H. et WOLFF I. A. 1966
(S) and (R)-1-Cyano-2-hydroxy-3-butène from Myrosinase hydrolysis of epi-Progoitrin and Progoitrin, Biochem., 5, 692-697

DELAVEAU P. 1956
Recherches sur les senevols des graines de Brassica, à l'aide de la chromatographie sur papier. I Graines de B. nigra et B. juncea, Ann. Pharm. Fr., 14, 765

DELAVEAU P. 1956
Recherches sur les senevols des graines de Brassica, à l'aide de la chromatographie sur Papier. II Graines de B. rapa, B. napus et B. oleanus, Ann. Pharm. Fr., 14,

DELAVEAU P. 1957
Sur la multiplicité des hétérosides à sénevol et leur relation avec la physiologie et la taxinomie des cruciférés, Bull. Soc. Bot. France, 104, 148

DELAVEAU P. 1958
Variations de la teneur en hétérosides à sénevol de l'Alliaria officinalis L. au cours de la végétation, Acad. Sci., 246, 1902

DELAVEAU P. 1958
Multiplicité des hétérosides à sénévol et leur relation avec la physiologie et la taxinomie des cruciférés, Bull. Soc. Bot. Fr., 105, 224

DELAVEAU P. 1967
Les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, de la Grande Capucine (Tropaeolum majus L.), Doct. Sc. Nat., Paris

DELAVEAU P. et KJAER A. 1963
The mustard oils of Denturia pinnata Link, Acta chem. Scand., 17, 2562-2563

DELAVEAU P., GUERIN A. P. et HOTELLIER F. 1969
Sur l'essai des graines de Moutardes et des moutardes condimentaires, Ann. falsif. et fraudes, 62, 86-96

DJERASSI C., BUDZIKIEWICZ H. et WILSON J. M. 1962
Mass spectrometry in structural and stereochemincal problems, Tetrahedron Letters, 263-270

DOROGANYEVSZKAJA E. A. 1953
A Nörények földrajzi elterjedésének ès a nyagcseréjének összefüggése (Relationship between matabolism and geographical distribution of plants), Akadémiai Kiadó, Budapest

DURET S., DEBRAY M. et PARIS R. R. 1971
Chimiotaxinomie des polyphénols des Apocynaceae : sur les flavonoïdes et les acides-phénols de quelques plantes malgaches appartenant au genre Pendaca et Hazunda, Pl. med. et Phyto, 5, 4-15

DURET S. et PARIS R. R. 1972
Chimiotaxinomie des polyphénols des Apocynacées : sur les flavonoïdes et les acides-phénols de deux Voacanga, Plant. med. et Phyto, 6, 58-65

DURET S. et PARIS R. 1972
Chimiotaxinomie des polyphénols des Apocynacées : sur les flavonoïdes et les acides-phénols de quelques Echitaïdées appartenant aux genres Baissea, Pl. med. et Phyto, 6, 210-215

EARLE F. R., MELVIN E. H., MASON L. H., VAN ETTEN C. H. et WOLFF I. A. 1959
Search for new industrial oils. I Selected oils from 24 plant families, J. Am. Oil. Chem. Soc., 36, 304-307

EARLE F. R., GLASS C. A., GLENDA C. et WOLFF I. A. 1960
Search for new industrial oils. IV, J. Am. Oil Chem. Soc., 37, 440-447

EGGER K. 1961
Chromatographie des flavonoïdes en système chloroforme-Ac. acétique - Eau. J. Chromato., 5, 74-82

EGGERS O. 1935
Über die morphologische Bedeutung des Leitbündelverlaufes in den Blüten der Rhoeadalen und über das Diagramm der Cruciferen und Capparidaceen, Planta, 24, 14-58

EGLINTON G. et HAMILTON R. J. 1967
Leaf Epicuticular Waxes, Science, 156, 1322-1335

EHRENDORFER R. 1965
Systematik une evolution der spermatophyta. Bericht über die Jahre 1963 und 1964, Fortschritte der Botanik, 27, 347

EICHLER A. W. 1865
Capparideae, Crucifereae, Papaveraceae, Fumariaceae In : MARTIUS, Fl. Bras., 13, 237-344

EICHLER A. W. 1865
Ueber den Blüthenbauder Fumariaceen, Cruciferen und einiger Capparideen, Flora, 48, 545-560

EICHLER A. W. 1878
Blüthendiagramme, Verl. Wilhelm Engelmann, Leipzig, 206-212

EL-HAMIDI A. 1970
Drug plants of the Sudan Republic in native medecine, Planta Med., 18 (3), 278-280

EL BASYOUNIS et TOWERS G. H. N. 1964
The phenolic acids in wheat, Can. J. Biochem., 42, 493

EMBERGER L. 1944
Les plantes fossiles dans leurs rapports avec les végétaux vivants, Ed. Masson, Paris

ENDLICHER S. 1840
Capparideae, Gen. Pl., 889-895

ENGLER A. et PRANTL K. 1891
Die naturlichen Pflanzenfamilien, Tome III, 2ème Ed. Leipzig, Engelmann, 1891

ERDTMAN H. 1952
Pollen Morphology and plant taxonomy, Almqvist et Wikeell, Stockholm, 483

ERDTMAN H. 1971
La chimie vient au secours de la classification des espèces, La Recherche, 2, 31-40

ETTLINGER M. G. 1950
Synthesis of the natural antithyroid factor L-5-vinyl-2-thiooxazolidone, J. Am. Chem. Soc., 72, 4792

ETTLINGER M. G. et HODGKINS J. E. 1956
The mustard oil of Papaya seed, J. Org. Chem., 21, 204-205

ETTLINGER M. G. et LUNDEEN A. J. 1956
The structures of Sinigrin and Sinalbin ; an enzymatic rearrangement, J. Am. Chem. Soc., 78, 4172-4173

ETTLINGER M. G. et LUNDEEN A. J. 1957
First synthesis of a mustard oil glucoside ; the enzymatic lassen rearrangement, J. Am. Chem. Soc., 79, 1764-1765

ETTLINGER M. G., DATEO G. P. Jr., HARISSON B. W., MABRY J.J. et THOMPSON C. P. 1961
Vitamin C as a coenzyme : the hydrolysis of Mustard oil Glucosides, Proc. Natl. Acad. Sci. US., 47, 1875-1880

ETTLINGER M. G. et KJAER A. 1968
Sulfur compounds in plants, Recent advances in Phytochem, 1, 44

FAUGERAS G. et PARIS R. 1971
Nouvelles recherches phytochimiques sur les Papilionacées Génistées d'Europe, Boissiera, 19, 201-218

FAUGERAS G. et PARIS R. 1965
Chimiotaxinomie des Papillionacéés Genistées. Bull. Soc. Bot. Fr., Mémoires, 75-102

FAWCETT W. et RENDLE A. B. 1914
Notes on Jamaican species of Capparis. J. Bot., 52, 142-144

FEIGL F.
Spot Tests in organic analysis. Elsevier Publisching Co, N-Y, 6th ed. 1960

FOUCHER J. P., POUSSE J. L., CAVE A., BOUQUET A. et PARIS R. 1971
Chimiotaxinomie des Ancistrocladaceae. I. sur les alcaloïdes de l'Ancistrocladus ealensis. Pl. med. et Phyto., 5, 16-24

GADAMER J. 1897
Über die Bestandteile des schwarzen und des Weissen senfsamens. Arch. Pharm., 235, 44-114

GAIND K. N. et JUNETA J. R. 1969
Investigations on Capparis decidua. Planta Med., 17, 93-99

GAIND K. N. et JUNETA J. R. 1970
Investigations of Capparis decidua. Res. Bull. Pand. Univers., 21, 67-71

GEISSMANN T. A. et CROUT D. H. 1969
Organic chemistry of secondary plant metabolism. Free man, Cooper et Cie, San Francisco

GEISSMAN T. A. et HARBORNE J. B. 1955
The chemistry of flower pigmentation in Antirrhinum majus. Arch. Biochem. Biophys., 55, 447-454

GILG E. et BENEDICT C. 1915
Monographische Zusammenstellung sämtlicher Capparidaceae des tropisehen und subtropischen Afrika. Bot. Jahrb., 53, 144-274 ; 452-454

GIRRE R. L. 1968
Evolution comparée de la teneur en acides aminés et en alcaloïdes chez les pervenches indigènes au cours de leur végétation. Thèse Etat Pharm., Rennes

GMELIN R. 1954
Präparative und analytische versuche über senfolglucoside Dissert., Univ. Tübingen

GMELIN R; et BREDENBERG J. B. 1966
Glucosinolate in den sumen von Crysimum perofskianum Fich et Mey. Arzneimett el Fursch, 16, 123-127

GMELIN R. et SCHLÜTTER M. 1970
Isolierung von 4-Methylthiobutyl glucosinolat (Glucoerucin) aus samen von Eruca sativa M. Archiv. Pharmazie, 303, 330.

GMELIN R. et KJÆR A. 1970
Glucosinolates in the Coricaceae. Phyto chem., 9, 591-593

GMELIN R. et KJÆR A. 1970
Glucosinolates in Matthiola fruticulosa and reladed species : a reinvestigation. Phytochem., 9, 569

GMELIN R. et KJÆR A. 1970
3 Hydroxy-2 Methyl prppyl glucosinolate in Reseda alba Phytochem., 9, 599-600

GMELIN R. et KJAER A. 1970
Isorerulic acid choline Ester. A new plant constituent. Phytochem., 9, 667

GMELIN R. et KJAER A. 1970
Glucosinolates in some new world species of Capparidaceae. Phytochem., 9, 601

GMELIN R. et VIRTANEN A. 1962
Neoglucobrassicin, ein Zweiter SCN^- Precursor von Indoltyp in Brassica-Arten. Acta chem. Scnad., 16, 1378-1384

GOMEZ S. A. 1953
Capparidaceas argentinas. Lilloa, 279-341.

GRAHAM R. A. 1958
Notes on African Capparidaceae. I, Kew Bull., 13, 31-32

GRAHAM R. A. 1958
Note on African Capparidaceae : II. New species in Cleome. Kew Bull., 13, 177-179

GRAY A. 1895
Capparidaceae. Syn. Fl. N. Am., 1, 180-187

GREER M. A. 1956
Isolation from Rutabaga seed of progoïtrin, the precursor of the naturally occurring antithyroïd compound, gastrin (L-5 Vinyl-2-thiooxazolidone). J. Am. chem. Soc., 78, 1260

GRINDLEY D. N.
The component fatty acids of the seed oils of Datura Metel, D. stramonium and Capparis Rothii. J. Sci. Food Agr., 5, 92-105

GROTE I. W. 1931
A new color reaction for soluble organic sulfur compound. J. Biol. Chem., 93, 25

GUIGNARD L. 1893
Sur la localisation des principes actifs chez les Capparidées. Compt. Rend., 117, 493-495

GUIGNARD L. 1893
Recherches sur le développement de la graine et en particulier du tégument séminal des Capparidacées. J. Botan., 7, 57

GUIGNARD L. 1893
Recherches sur la localisation des principes actifs chez les Capparidacées. J. Botan., 7, 350

HADJ-MOUSTAPHA H. 1958
Organogenèse de la fleur axillaire chez quelques Capparidacées. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 246, 2390-2393

HADJ MOUSTAPHA H. 1965
Capparidaceae. Flore de Madagascar et des Comores. Museum d'histoire naturelle. Paris

HAIS I. M. et MACEK K. 1963
Paper chromatography. Academic Press. N-Y and London

HARBORNE J. B. 1964
Biochemistry of phenolic compounds. Acad. Press. Ed.

HARBORNE J. B.
Phytochemical phylogeny. Academic Press, Londres.

HARBORNE J. B. 1972
Phytochemical ecology. Acad. Press Londres et New York.

HARBORNE J. B., BOULTER D. et TURNER B. L. 1971
Chemotaxonomy of the Leguminosae. Acad. Press. Londres.

HARBORNE J. B. et SWAIN T. 1969
Perspectives in phytochemistry. Acad. Press. Londres.

HAWKES J. C. 1963
Chemotaxonomy and serotaxonomy. Acad. Press. Londres

HEGNAUER R. 1962-1969
Chemotaxonomie der Pflanzen I-V. Birkhaüser, Basel

HEGNAUER R. 1961
Die Gliederung der Rhoeadales sensu Wettstein im Lichte der Inhaltstoffe. Pl. Med., 9, 37-46

HEGNAUER R. 1963
The taxonomic significance of alkaloids. In : chemical plant taxonomy. Ed. T. Swain.

HENRY A. J. 1948
The toxic principle of Courbonia virgata : its isolation and identification as a Tetramethylammonium Salt. Brit. J. Pharmacol., 3, 187-188

HENRY A. J. et KING H. 1950
The isolation and identification of (-) Stachydrine Ethyl ester periodide from the root of Courbonia Virgata. J. Chem. Soc., 3, 2866-2868.

HIWATARI Y.
Über die stickstoffhaltigen bestandteile der Früchta von Citrus grandis Osbeck ; Form. Buntam, Hayat. J. Biochem., 7, 169-173.

HOOKER J. D. 1892
Capparis flexuosa. Bot. Mag., 118

HOTELLIER F. et DELAVEAU P. 1970
Localisations histologiques. I. Observations sur la diffusion de polyphénols chez les plantes vivantes. Ann. Pharm. Fr., 28, 401-408

HUTCHINSON J. 1959
The families of Flowering plants. Vol. I, 2ème édition. Clarendon Press. Oxford

HUTCHINSON J. 1964
The genera of flowering plants. Vol. I. Clarendon Press, Oxford.

HUTCHINSON J. 1967
The Genera of flowering plants. Vol. II. Clarendon Press, Oxford.

HUTCHINSON J. 1969
Evolution and phylogeny of flowering plants. Academic Press.

IBRAHIM R. K. et TOWERS G. H. N. 1960
The identification, by chromatography, of plant phénolic acids. Arch. Biochem. Biophys., 87, 125-128

ILTIS H. H. 1955
Capparidaceae of Nevada. Contr. Fl. Nev., 35, 1-24

ILTIS H. H. 1956
Studies in the Capparidaceae. II. The Mexican species of Cleomella : taxonomy and evolution. Madrono, 13, 177-189

ILTIS H. H. 1957
Studies in the Capparidaceae. III. Evolution and phylogeny of the Western North american Cleomoideae. Ann. Missouri Bot. Gard, 44, 77-119

ILTIS H. H. 1959
Studies in the Capparidaceae V. Capparidaceae of New Mexico. South W. Nat., 3, 133-144

JACOBS M. 1960
Capparidaceae. In Van Steenis, G. G. G. J. Fl. Males. I, 6, 61-105

JACQUESY J. C., JACQUESY R., LEVISALLES J., PETE J. P., RUDIER H. 1964
Résonance magnétique nucléaire. Les groupes méthyles du (5) cholestone. Bull. Soc. Chem. Fr., 2224-2230

JANOT M. M., LE MEN J. et GARNIER J. 1965
Chimiotaxinomie des Pervenches. Bull. Soc. Bot. Fr. Mémoire, 117-124

JENSEN U., FROHNE D. et MORTIZ O. 1964
Serogical investication in the field of Rhoeadales and Ranunculaceae. Serol. Mus. Bull., 32, 3-6

JUNEJA T. R., GAIND K. N. et DHAWAN C. L., 1970
Ingestigations on Capparis sepiaria Lin. Res. Bull. Paris, Univers., 21, 23-26

JUNEJA T. A., GAIND K. N. et PANESAR A. S. 1970
Investigations of Capparis decidua Edg. Study of isothiocyanate glucoside. Res. Bull. Paris Univers. 21, 519-521

JURD L. et HOROWITH R. M.
Spectral studies on flavonols. The structure of Azelein. N. Org. Chem., 23, 1618-1622

JUSSIEU 1789
Genera plantarum et Theophimum Barrois ad ripam Anguffinianoram.

JUTISH M. et de LA LLOGA 1963
Récentes acquisitions dans le domaine de la chromatographie des amino-acides. Bull. Soc. Chim. Fr., 12, 2913-2923.

KAISHNASWAMY P. R., RAJAGOPAL Rao D., et ANANTHASWAMY H. N. 1965
Rosen's ninhydrin method for amino acid analysis. Anal. Biochem., 12, 582-584

KERHARO J. 1968
Revee des plantes médicinales et toxiques du Sénégal. Pl. Med. et Phyt., 2, 108-146

KINDL H. 1964
Uber die Biosynthese des Bergenins. Monatsh-Chem 95, 1561-1563

KIRIBUCHI T., MIZUNAGA T. et FUNAHASI 1966
Separation of Soybean sterol by florisil chromatography and charactérisation of acetylated glucoside. Agr. Biol. Chem., 30, 770-775

KJAER A. 1959
Naturally occuring isothiocyanates and their parent glucosides. Suomen Kemistileht., A 32, 53-61

KJAER A. 1960
Naturally derived isothiocyanates and their parent glucosides. Fortsch. Chem. Org. Nat., 18, 122 176

KJAER A. 1961
Organic sulfur compound. Chap. 34, pp. 409-420. Oxfor Pergamon Press

KJAER A. 1968
Glucosinolates in Tovariaceae. Phytochem., 7, 131

KJAER A., CHRISTENSEN W. et HANSEN S. E. 1959
The absolute configuration of (-)-5-Vinyl-2-Oxazolidinethione (Goitrin) end its Glucosidic Progenitor (Progoitrin). Acta chem. Scand., 13, 144-150

KJAER A. et CHRISTENSEN B. W. 1959
(+)-4-Méthyl-2 Oxazolidinethione, the enzymic hydrolysis product of a glucoside (Glucosisymbrin) in seeds of Sisymbrium austriacum Jacq. Acta chem. Scand., 13, 1575-1584

KJAER A. et CHRISTENSEN B. W. 1962
Glucobenzoisanstricin, a new glucoside present in seeds of Sisymbrium austriacum Jacq. Acta chem Scand., 16, 83-86

KJÆR A., CONTI J. et LARSEN I. 1953
A systematic ingestigation of the occurence and chemical nature of volatile isothiocyanates in seeds of various plants. Acta chem. Scand., 7, 1276-1283

KJAER A. et FRIIS P. 1962
Isothiocyanates from Putranjiva Roxburghii Wall. Includint (s)-2-methylbutyl Isothiocyanates. A new mustard oil of natural dérivation. Acta chem. Scand. 16, 936-946

KJAER A. et GMELIN R. 1955
4 Methylthiobutyl iso thocyanate. A new naturally occuring mustard oil. Acta chem. Scand., 9, 542

KJAER A. et GMELIN R. 1955
4 methylthiobytyl isothiocyanate. A new naturally occuring mustard oil. Acta chem. Scand., 9, 542-544

KJAER A. et GMELIN R. 1956
Glucocapparin. A new cristalline isothiocyanate glucoside. Acta chem. Scand., 10, 385

KJAER A. et GMELIN R. 1957
A new osithiocyanate glucoside (Glucobarbarin) furnishing (-)-5-Phényl-2-Oxazolidinethione upon enzymic hydrolysis. Acta chem. Scand., 11, 906-907

KJAER A. et GMELIN R. 1958
An isothiocyanate glucoside (Glucobarbarin) of Reseda luteola L. Acta chem. Scand., 12, 1693-1694

KJAER A., GMELIN R. et JENSEN R. B. 1956
Glucoconringiin. The natural precursor of 5,5-Dimethyl-2-oxazolidinethione. Acta chem. Scand., 10, 432-438

KJAER A., GMELIN R.et JENSEN R. B. 1956
(-)-10 Methylsulphinyldecyl isothiocyanate, a new mustard oil present as a glucoside. Acta chem. Scand. 10, 1614

KJAER A., GMELIN R. et LARSEN I 1955
Methyl isothiocyanate, a new naturallu occuring mustard oil, present as glucoside (Glucocapparin) in Capparidaceae. Acta chem. Scand., 9, 857-858

KJAER A. et JENSEN R. B. 1958
Synthesis and reactions of 3-Benzoyloxypropyl isothiocyanate, enzumically liberated from Glucomalcolmiin, and some compounds of related structure. Acta chem. Scand., 12, 1746-1758

KJAER A., LARSEN I. et GMELIN 1955
5-methylthiopentyl isothiocyanate, a new mustard oil present in anture as a glucoside (Glucoberterain) Acta chem. Scand., 9, 1311-1316

KJAER A., RUBINSTEIN K. et JENSEN K. A. 1953
Unsaturated. Fire-carbon isothiocyanates. Acta chem. scand., 7, 518-527

KJAER A. et RUBINSTEIN K. 1953
Paper chromatography of Thioureas. Acta chem. Scand. 7, 528-536

KJÆR A.et RUBINSTEIN K. 1954
Synthesis of p. hydroxy benzyl isothiocyanate and demonstration of its presence in the glucoside of white mustard (Sinapis alba L.). Acta chem. Scand. 8, 598-600

KJAER A., SCHUSTER A., DELAVEAU P. et KOUDOGBO B. 1972
Glucosinolates in Boscia senegalensis. Phytochem, 12, 725-726

KJAER A. et THOMSEN H. 1962
Glucocleomin, a new natural glucosid, furnishing (-)-5-éthyl-5-méthyl-2-oxazolidinethione on enzymic hydrolysis. Acta chem. Scand., 16, 591-598

KJAER A. et THOMSEN H. 1962
The isothiocyanate glucoside (Glucocapparin) in Crateava roxburgaii R. Br. (Capparidaceae). Acta chem. Scand., 16, 783-784

KJÆR A. et THOMSEN H. 1962
Glucocappaxilin, a new naturally occurring Thioglucoside. Acta chem. Scand., 16, 2065-2066

KJAER A. et THOMSEN H. 1962
Glucocappasalin, a new naturally occurring Thioglucoside. Acta chem. Scand., 16, 2065-2066

KJAER A. et THOMSEN H. 1963
Gluconorcappasalin, a thioglucoside producing 5-Oxoheptyl isothiocyanate on enzymic hydrolysis. Acta chem. Scand., 17, 561-562

KJÆR A. et THOMSEN H. 1963
Isothiocyanate-producing glucosides in species of Capparidaceae. Phytochem., 2, 29-32

KJÆR A., THOMSEN H. et HANSEN S. E. 1960
Glucocapangulin, a novel isothiocyanate producing glucoside. Acta chem. Scand., 14, 1226-1227

KJÆR A. et WAGNIERES 1965
3-Méthyl - 3 butenylglucosinolate, a new isothiocyanate producing thioglucoside. Acta chem. Scand., 19, 1989

KOUDOGBO B., DELAVEAU P. et ADJANOHOUN E.
Sur une Capparidaceae africaine, le Buchholzia coriacea Engl. Ann. Pharm. Fr., 30, 93-98

KOUDOGBO B., DELAVEAU P. et BOUSSET J. L. 1973
Les alcaloïdes des Capparidaceae. Phytochem. Sous Presse

KURUP P. A. et RAO P. L. N. 1954
Antibiotic principle from Moringa pterygasperma. Indian J. Med. Res., 42, 85-123

MABRY J. J., MARKHAM K. R. et THOMAS M. B.
The systematic identification of Flavonoïds. Springer-Verlag. Berlin

Mac GIBBON D. B. et ALLISON R. M. 1970
A method for the separation and detection of plant glucosinolases. Phytochem., 9, 541-544

MANSKE R. H. F. et HOLMES H. L. 1950
The Alkaloids chemistry and physiology. Acad. Press. 91-104

MANZOOR-I-KHUDA, KAPADIA Z. 1968
Isolation of -sitosterol from Capparis aphylla. Pakist. J. oci. industr. Res., 11 (1) 108

MARTIN KAPLAN J. et SCHNEIDER F. L. 1962
Electrochromatographic separation of amine acids. Microchemical J., 6, 557-560

MASCRE M. et PARIS R. 1936
Recherches biochimiques et pharmacologiques sur le rutoside. Bull. Sc. Pharm., 43, 279-282

MAURITZON J. 1935
Die Embryologic einiger Capparidaceen sawie von Tovaria pendula. Ark. Bot., 26A, 1-14

MENTZER C. et FATIANOFF O. 1964
Actualités de phytochimie fondamentale. Tome I. Masson et Cie, Paris

MERXMULLER H. et LEINS P. 1967
Die verwandtschafts beziehungen der Kreuzblütler und Mohngewächse. Botan. Jahrb., 86, 115-129

MILLER F. M. et MING CHOW L. 1954
Alkaloïds of Achillea millefolium L. J. Am. Soc., 76, 1354

MILLER R. W., DAXENBICHLER M. E., EARLE F. R. et GENTRY H. S. 1964
Search for new industrial oils : WIII The genus Limnanthex. J. Amer. Oil chem. Soc., 41, 167-168

MOFFAT E. D. et LYTLE R. I. 1959
Poluchromatic technique for the identification of amino acids on apper chromatograms. Anal. Chem., 31, 926-928

MOORE S., SPACKMAN D. H. et STEIN W. H. 1958
Chromatography of amino acid on sulfonated polystyrène resins. Anal. Chem., 30, 1185-1190

MOORE A. W. 1964
Comparison of three methods of essay of amino acids in barley grain. Agrochimica, 9, 75-79 et C. A. 1965, 63, 2101

MOTHES K. 1964
Problems of chemical taxonomy of Plants Probl. Evoluntsionnoi i Tekhn. Biochim. Akad. Nauk SSSR, Inst. Biokhim., 176-181

NEUBERG G., 1923
Über sulfatase. Biochem. 2, 140, 295-298
NEUBERG G. et WAGNER 1926
Über die Verschiedenheit der sulfatase und Myrosinase. WIII Mitteihung über sulfatase. Biochem. Z., 174, 457-463

NGUYEN HIEP, DELAVEAU P. et PARIS R. 1964
Sur la dessiccation et la stabilisation des plantes médicinales. I : plantes à hétérosides flavoniques. Ann. Pharm. Fr., 22, 573-580

NGUYEN HIEP 1966
Contribution à l'étude de la dessication des plantes médicinales. Thèse Doct. Pharma. (Etat), Paris

NYBOM N. 1964
Thin-layer chromatographic analysis of Anthocyanidins. Physiologia plantorum, 17, 157-164.

ORR M. Y. 1921
The occurrence of a tracheal tissue envoloping the embryo in certain capparidaceae. Notes Bot. Gard. Edinb., 12, 249-257, 259-160

PAGANI F. et ROMUSSI G. 1969
Sui contituente dei semi di Cleome pungens Willd II Isolamento del claruro di feruloileolina Farmoca, ED. sie Ital. 24(2), 257-262

PARIS R. R. et BAUDOIN G. 1972
Sur la répartition des polyphénols chez diverses espèces de digitales. C; R. Acad. Sc. Paris, 274, 3394-3397

PARIS R. et BEAUQUESNE L. 1950
Les dérivés flavoniques. Ann. Pharm. Fr., 8, 322-349

PARIS R. et DELAVEAU P. 1965
Possibilités et limites de la chimiotaxinomie. Bull. Soc. Bot. Frce (mémoire), 143-149

PARIS R. et NOTHIS A.
Screening à propos de plantes de la Nouvelle Calédonie. Pl. Med. Phyto., 3, 274-287

PADIEU P. et MALEKNIA N. 1965
Un nouveau système de tampon volatils pour la chromatographie des acides aminés sur résine échangeuse de cations. Bull. Soc. Chim. Biolo, 47, 493-504

PARTRIDGE S. M. 1946
Application of the paper partition chromatogram to the qualitative analysis of reducing sugars. Nature, 158, 270-271

PATCHETT A. A. et WITKOP B. 1957
Studies on Hydroxyproline. J. Amer. Chem. Soc., 79, 185

PAULIAN R. 1947
Observations écologiques en forêt de basse Côte d'Ivoire. Paris

PAX F. 1887
Beiträge zur Kenntnis der Capparidaceae. Bot. Jahrle, 9, 39-69

PAX F. 1891
Capparidaceae. Nat. Pflanzenfam. III 2, 209-236

PAX F. et HOFFMANN 1936
Capparidaceae in ENGLER A. et PRANTL K. Die natürlichen Pflanzenvamilien, 17b, 146-223, 2ème Ed. Leipzig, Berlin

PAYER J. B. 1857
Traité d'organogénie comparée de la fleur. 2 vols. Masson, Paris

PEACH K. 1960
Biochemie und physiologie der sekundären Pflanzenstoffe Spring Verlag, Berlin

PERNET R. 1972
Revue Les Capparidacees. Plant. Med. et Phyto., 6, 68-77

PESTALOZZI A. 1898
Die Gatting Boscia Lam. Bull. Herb. Boiss. 1-152

PETERSON E. A. et SOBER H. A. 1959
Variable gradient device for chromatography. Anal. chem., 31, 852-857

PIEZ K. A. et MORRIS L. 1960
A modified procedure for the automatic analysis of amino acids. Anal. Biochem, 1, 187-201

POISSON J. 1965
Chimiotaxinomie des Rauwolfia. Bull. Soc. Bot. Fr. Mémoire, 162-175

PONSINET G. et OURISSON G. 1965
Etudes chimiotaxonomiques dans la famille des Euphorbiacées II. Phytochemistry, 4, 813-815

PONSINET G. et OURISSON G. 1965
Etudes chimiotaxonomiques dans la famille des Euphorbiacées I. Phytochemistry, 4, 799-811

PRIDHAM J. B. et SWAIN T. 1965
Biosynthetic pathways in Higher plants. Acad. Press. London ; New-York.

RAFFAUF R. 1970
A handbook of Alkaloïds and Alkaloïd-containing plant. Wiley et Sons, Inc.

RAGHAVAN T. S. 1937-1938
Studies in the Capparidaceae I. The life history of Cleome chelidonii Linn. J. Of the Linnean soc. of London, 51, 43-72

RAGHAVAN T. S. 1938
Studies in the Capparidaceae III. The prochromosomes of Polanisia trachysperma and Gynandropsis pentaphylla DC. Cytologie, 8, 563-578

RAGHAVAN T. S. 1939-1945
Studiess in the Capparidaceae IV. Floral anatomy and some structural features of the Capparidaceous flowers. J. Linn. soc., 52, 239-257

RAGHAVAN T. G. 1938
Studies in the Capparidaceae II. Floral morphology and cytology of Gynandropsis pentaphylla DC. Ann. Bot. série II, 75-95

RIBEREAU-GAYON P. 1968
Les composés phénoliques des végétaux. Dunod Ed., Paris.

ST HILAIRE A. et MOQUIN TANDON A. 1830
Sur la symétrie des Capparidées et des familles qui ont le plus de rapport avec elle. Ann. Sc. Nat., 20, 318-326

SALJAEV R. K. 1961
Méthode rapide de détermination histochimique des acides aminés libres sur matériel végétal. Bot. Zh. SSSR, 46, 144-145

SANDBERG M. et HOLLY O. M. 1932
Note on myrosin. J. Biol. Chem., 96, 443-447

SAUNDERS E. R. 1928
A reversionary character in the stock (Matthiola incana) and its significance in regard to the structure and evolution of the Gynoceum in the Rhoeadales, the orchidaceae and others families. Ann. Bot., 37, 472-481

SCHNELL R. 1971
Introduction à la Phytogéographie des pays tropicaus. Vol. II. Gauthier-Villars, ed., Paris.

SCHRAUDOLF H. 1965
Distribution of glucobrassicin and néoglucabrassicin in higher plants. Experientia, 21, 520-522

SCHRUADOLF H. 1968
Untersuchungen zur verbreitung von indolglucosinolaten in cruciferen. Experientia, 24, 434-435

SCHRAUDOLF H. 1969
Serotonin und Indolglucosinolate in Tovaria pendula. Natur wissenschaften, 56, 462

SCHULTZ O. E. et GLEIXNER R. K., 1962
Transport formen von Isothiocyanaten stabulität und Spatt-barkeit. Arch. Pharm., 295, 879-894

SCHULTZ O. E. et GMELIN R. 1952
Papier chromatographie der Senfölglucosid-drogen. Z. Naturforsch, 7b, 500-506

SCHULTZ O. E. et GMELIN R. 1953
Papier chromatographie senfölglucosidhaltiger Pflanzen. Neue ergebnisse. Z; Naturforscha, 8 b, 151-156

SCHULTZ O. E. et GMELIN R. 1954
Quantitative bestimmung von Senfölglucosiden mit dein Anthronreagens. Z. Naturforsch, 9b, 27-29

SCHULTZ O. E. et GMELIN R. 1954
Das senfölglukosid "Glukoiberin" und der Bitterstaff " "Ibamarin" von Iberis amara L.
Archiv. Pharm. 287/59n 404-411

SCHULTZ O. E. et WAGNER W. 1955
Kristallisierte azetylcerivate von micht oder schwer Kristallisierenden senfölglukosiden. Arch. Pharm. 288/6,,525(532

SCHULTZ O. E. et WAGNER W. 1956
Trennung des senfölglucoside durch absteigen de Parier chromatographie. Z. Naturforsch., 11 b, 73-78

SCHWIMMER S. 1960
Myrosins. Catalyzed formation of turbidity and Hydrogen sylfide from sinigrin. Acta chem. Scand. 14, 1838

SCHWIMMER S.1961
Spectral changes during the action of myrosinase on sinigrin. Acta chem. Scand., 15, 535-544

STEENBOCK 1918
Isolation and Identification of stachydrin from alfalfa hay. J. Biol. Chem., 35, 1-13

SEWARD A. C. 1931
Plant life through the Age
Ed. Cambridge Univer. Press. Cambridge

SOSA A., SOSA BOURDOUIL (Mme C.) 1966
Répartition du lupéol dans les plantes. Bull. Soc. bot. Fr., 112, 355-369

STAHL E. et KALTENBACH V. 1961.
Dunschicht Chromatographie VI Mitteilung. Spurenanalyse von Zuckergemischen Auf kieselgur G-Schichten.
J. Chromatog., 5, 351

STAHL E. 1969
Thin-layer chromatographie. 2ème étidion. Ed. Spinger, Berlin.

STOUDT H. N. 1941
The floral morphology of some of the Capparidaceae. Am. J. Bot., 28, 664-675

STEIN E. B. 1907
Über die chemische Natur und die Giftigkeit des aus Raps und verwandlen Kruziferen entwichelten Senföles. Dissertation, Berlin

SUMI M.
Über die chemischen Bestandteile der sporen von Aspergellus aryzae. Biochem. Z., 195, 161-174

TAKHTAJAN A. 1959
Die evolution der Angiospermen. Iena, Fischer,

TEMPE J. 1966
Analyse des acides aminés par chromatographie I. Considérations générales sur l'intégration des pics. Une méthode rapide d'intégration mannuelle. J. Chromatog. 24, 169-174

TETENYL P. 1970
Infraspécific chemical taxa of medicinal plants. Akadémiai Kiadó, Badapest.

TODA S. 1923
Über die organischen Basen im extraktiostaffe aus pflanzlichen und tierischen Nahrungsstoffen. Dritte Mitteilung. J. Biochem, 2, 433-436

TURSCH B., TURSCH E., HARISSON I. T., da SILVA B. T., MONTEIRO H., GILBERT B., MORS N. B., DJERASSI C. 1963
Demonstration of Ring conformational changes in triterpenes of the β amyrine class. Isolated from Stryphnodendron coriaceum. J. Org. Chem, 28, 2390-2394

TURSCH B., SAVOIR R., OTTINGER R. et CHIURDOGLU G. 1967
NMR Spectra of Triterpenes. Tetrahedron Letters, 539-543

TSURDO I., YOSHIDA M. et HATA T. 1967
The Chromatographic behavious of the Myrosinase and some of its characteristic. Agr. Biol. Chem., 31, 18-25

VESQUE J. 1882
Essai d'une monographie anatomique et descriptive de la tribu des Capparidées. Ann. Sci. Nat. Bot. VI, 13, 47-135

WAGNER H., HORHAMMER L. et NUFFR H. 1965
Sur Dünns chichtchromatographie von Senfölen und Senfölglukosiden. Arzneimittel-Forsch, 15, 453-457

WALLACE R. E. 1963
The Genera of Capparaceae and Moringaceae in the Southeastern United States. J. Arn. Arb., 44, 81-94

WALLER G. R.
Progress in the chemistry of fats and other lipids. Vol. X, Parti 2, p. 128. Pergamon Press.

WATT J. M. et BREYER BRANDWIJK M. G. 1962
The medicinal and Poisonaus plants of Southern and Eastern Africa, E. et S. Lixingston Ltd., Londres

WESELA i. V. 1964
Poloragraphic détermination of amino acids. Ukr. Khim. Zh, 36, 398-402

WILLIAMS A. H. 1955
Paper chromatography of Cinnamic acid derivatives. Chem. and Ind., 120-121

DE WOLF G. P. 1962
Notes on African Capparidaceae : III.
Kew Bull., 16, 75-83

De WOLF. G. P. et POLHILL R. M. 1964
Notes on African Capparidaceae : IV. Kew Bull., 19, 61

WOODSON R. E. Jr. et SCHERY R. W. 1948
Capparidaceae in Flora of Panama. Ann. Missouri Bot. Gard., 35, 75-99

ZAFFONONI A., BURTON R. B. et KENTMANN H. 1950
Adrenal Cortical Hormones : analysis by paper partition chromatography and occurrence in the urine of normal persons. Science, 111, 6-8